

보안과제(), 일반과제(O)

꾸지뽕나무 잎과 열매의 건강기능성을
활용한 가공식품 개발

(Development of Physiologically Active
Processed Food Products from the Leaf and the
Fruit of *Cudrania tricuspidata*)

한 국 식 품 연 구 원

농 립 수 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “꾸지뽕나무 잎과 열매의 건강기능성을 활용한 가공식품 개발” 과제의 보고서로 제출합니다.

2009년 5월 29일

주관연구기관명 : 한국식품연구원

주관연구책임자 : 홍석산

세부연구책임자 : 홍석산

세부연구책임자 : 김현구

연 구 원 : 손동화

연 구 원 : 성기승

연 구 원 : 한찬규

위탁연구기관명 : 강릉대학교

위탁연구책임자 : 유병진

연 구 원 : 권혜란

연 구 원 : 유승균

협동연구기관명 : (주)고성바이오팜

협동연구책임자 : 장미선

요 약 문

I. 제 목

꾸지뽕나무 잎과 열매의 건강기능성을 활용한 가공식품 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

○ 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*, silkworm thorn)는 황해도 이남에서 자라는 낙엽 소교목, 관목이다 (1). 현재 무분별한 채취 및 남벌로 인하여 인적이 드문 산 및 해안에 자생하고 있다. 척박한 땅에서도 잘 자라고 병충해에 강하여 농림업 분야에서 좋은 소득작목이 될 수 있다. 식용가능한 부위는 잎과 열매이다. 암 치료성분이 함유되어 새로이 각광받는 최신 경제 수종으로 상황버섯 종균 접목, 당뇨병 및 강장제의 원료로 많이 쓰인다 (2). 민간요법에서 열매는 부인의 월경과다 증상에 마편초, 유백피와 같이 달여서 복용하며, 약물 달인 물로 눈을 씻으면 눈이 밝아진다고 알려져 있다. 민간에서 이뇨, 진해 등에 약재로 쓰인다. 여성의 통경, 어혈, 신장결석을 없앤다. 자궁암, 자궁근종에 특효약이며 위암, 식도암, 간암, 대장암, 폐암, 부인암 등에 민간요법으로 쓴다. 줄기, 줄기껍질, 잎, 열매, 뿌리를 약으로 쓴다. 가지나 줄기를 잘라 향아리에 넣고 태워 기름을 내려 쓰면 약효가 뛰어나다. 열매도 오래 먹으면 머리가 검어지고 신장기능이 좋아진다.

○ 꾸지뽕나무(栲木) 잎의 맛은 싱겁고, 약간 달며 서늘하다 (3). 부스럼과 습진을 치료한다. 소염하고 통증을 완화시키며 풍을 제거하고 혈액순환을 촉진한다. 유행성 이

하선염, 폐결핵, 만성 요퇴통, 타박 勞傷, 급성 관절 挫傷을 치료한다.

꾸지뽕 열매의 성질은 평하고 맛은 쓰다. 열을 내리고 血分에서 熱邪를 제거하며 근육과 힘줄을 풀고 絡脈을 잘 통하게 한다.

柘木(산뽕나무)는 性溫, 味甘, 無毒하니 風虛耳聾과 瘡疾을 다스린다 (4).

꾸지뽕나무의 수피와 근피 (柘木白皮)는 맛이 달고 溫하며 독이 없다 (5). 부인의 崩中, 血結, 瘡疾을 치료한다. 湯液으로 술을 만들어 먹으면 風虛에 의한 청력장애, 과로에 의한 허약과 몸이 마르는 증상, 腰腎이 冷한 증상, 夢精을 다스린다.

植物 생약재의 경우 부위별 생리활성이 크기에는 차이가 있으나 비슷한 경우가 많으며 (5), 위에 제시된 바와 같이 꾸지뽕나무의 잎과 열매는 훌륭한 건강기능성을 지니고 있다.

○ 꾸지뽕나무의 줄기와 뿌리는 생약재로 쓰고, 잎과 열매를 활용하여 다양한 건강기능성 식품이 개발되어 산업화된다면, 꾸지뽕나무는 유희 농지와 산림을 활용하여 재배될 수 있는 고소득 작물이 될 수 있다.

○ 국내, 외의 꾸지뽕의 생리활성 연구는 주로 의약품 원료로 사용되는 뿌리와 줄기를 대상으로 수행되어 약물개발을 위한 기초자료가 되고 있다. 따라서 꾸지뽕을 이용한 기능성 식품을 개발하기 위하여 꾸지뽕 잎과 열매의 생리활성 및 가공방법에 관한 연구가 필요하다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

○ 꾸지뽕나무 잎과 열매의 수확시기별 아미노산, 지방산, 식이섬유, 당류, 광물질, 엽록소, β -sitosterol, anthocyanins, cyanidin 3-glucoside 및 polyphenols 함량 조사

- 꾸지뽕나무 잎과 열매의 혈당조절, 비만억제, 숙취해소 및 노화억제 활성 조사
- 꾸지뽕나무 잎과 열매의 가공법이 혈당조절, 비만억제, 숙취해소 및 노화억제 활성에 미치는 영향 조사
- 꾸지뽕나무 잎과 열매의 활성성분 농축법 개발
- 꾸지뽕나무 잎과 열매 추출물의 항산화 활성 조사
- 꾸지뽕나무 잎과 열매의 여러 용매 추출에 따른 항산화 활성 측정
- 꾸지뽕나무 잎과 열매 추출물에 함유된 항산화 물질의 안정성 측정
- 알긴산을 이용한 꾸지뽕나무 잎과 열매 추출물의 항산화 활성 안정화
- 꾸지뽕나무 잎과 열매의 활성 성분의 물리화학적 특성 연구
- 꾸지뽕나무 잎과 열매의 추출, 농축 및 건조 방법 개발
- 꾸지뽕나무 잎과 열매를 활용한 음료, 차, 환 및 식품첨가제 개발
- 꾸지뽕나무 잎과 열매 추출물의 향미 개량법 연구
- 꾸지뽕나무 잎과 열매를 활용한 기능성 식품첨가제 개발

○ 꾸지뽕나무 잎과 열매를 활용한 국수, 피복쌀 및 술 개발

IV. 연구개발 결과

- 고성산 꾸지뽕잎은 타지역 꾸지뽕잎보다 우수한 생리활성을 지닌 성분을 많이 함유하였다.
- 꾸지뽕 잎과 열매는 우수한 항산화 활성을 보였다.
- 꾸지뽕잎은 혈당 및 체중 조절 활성을 보였다.
- 꾸지뽕잎과 하수오 배합물은 우수한 노화억제 활성을 보였다.
- 꾸지뽕잎을 활용한 음료, 차, 식품첨가제, 국수 및 술이 개발되었다.
- 꾸지뽕잎과 동과를 함유한 아토피 피부염 억제 조성물이 개발되었다.
- 꾸지뽕 열매의 밀환제가 우수한 숙취해소 활성을 보였다.
- 꾸지뽕잎을 활용한 비만억제용 곡물 피복액이 개발되었다.

IV. 연구성과 및 성과활용 계획

- * 꾸지뽕잎의 노화억제 관련 특허 (출원번호 10-2007-0134556 노화억제용 배합물)
- * 특허출원 제10-2009-0010704호 꾸지뽕잎과 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물, 평태산업(주)에 유상 기술이전 완료
- * 꾸지뽕의 체중 및 혈당 조절 기작이 타연구에서 추가연구될 것임
- * 본 연구의 모든 결과들이 관련 산업체에 기술이전되고 홍보될 것임

SUMMARY

- The leaf of *Cudrania tricuspidata* at Goseong-gun in Gangwon-do contained more health-promoting compounds than that *Cudrania tricuspidata* of other do regions.
- The leaf and the fruit of *Cudrania tricuspidata* showed high antioxidant activity.
- The leaf of *Cudrania tricuspidata* showed antidiabetic and antiobese activity.
- The mixture of *Cudrania tricuspidata* leaf and polygona multiflora radix showed high anti-aging effect.
- The products of drink, tea, food additive, noodle and wine utilizing the leaf of *Cudrania tricuspidata*.
- The mixture of *Cudrania tricuspidata* leaf and wax gourd showed high anti-eczema effect.
- *Cudrania tricuspidata* fruit pill with honey showed high prevention of alcohol hangovers.

- Grains coated with the extract of *Cudrania tricuspidata* leaf showed good weight loss effect.

CONTENTS

Chapter 1. Outlines of Project	
I. Objectives of Project	
II. Necessities of Project	
III. Scopes of Project	
Chapter 2. R&D Status in Domestic and Overseas	
Chapter 3. Contents and Results of R&D	
I. Nutritional Composition of <i>Cudrania tricuspidata</i> Leaf	
II. Antioxidant Activity of <i>Cudrania tricuspidata</i> Fruit	
III. Antioxidant Activity of <i>Cudrania tricuspidata</i> Leaf	
IV. Antioxidant Activity of <i>Cudrania tricuspidata</i> Twig	
V. Antidiabetic and Antiobese Effects of <i>Cudrania</i> <i>tricuspidata</i> Leaf	
VI. Patent about Anti-aging Effect of <i>Cudrania</i> <i>tricuspidata</i> Leaf	
VII. Uses of <i>Cudrania tricuspidata</i> Leaf	
1. Drink	
2. Tea	
3. Food Additive	
4. Noodle	
5. Wine	

VIII. Patant about Anti–Eczema Effect of <i>Cudrania</i> <i>tricuspidata</i> Leaf	
IX. Anti–Alcohol Hangovers of <i>Cudrania tricuspidata</i> Fruit	
X. Grains–Coating Extracts of <i>Cudrania tricuspidata</i> Leaf with Weight Loss Effect	
Chapter 4. Achievement of Research Objectives and Contribution to Research Area	
Chapter 5. Results of R&D and Application Plan of the Results	
Chapter 6. References	

목 차

제1장 연구개발과제의 개요	
제1절 연구개발의 목적	
제2절 연구개발의 필요성	
제3절 연구개발의 범위	
제2장 국내외 기술개발 현황	
제3장 연구개발수행 내용 및 결과	
제1절 꾸지뽕잎의 영양성분 함량	
제2절 꾸지뽕 열매의 항산화성	
제3절 꾸지뽕 잎의 항산화성	
제4절 꾸지뽕 줄기의 항산화성	
제5절 꾸지뽕 잎의 혈당 및 체중 조절 기능	
제6절 꾸지뽕 잎의 노화억제 관련 특허	
제7절 꾸지뽕의 활용	
1. 음료	
2. 차	
3. 식품첨가제	
4. 국수	
5. 술	
제8절 꾸지뽕 잎의 아토피 피부염 억제 관련 특허	
제9절 꾸지뽕 열매의 숙취해소 효과	
제10절 꾸지뽕잎을 활용한 비만억제용 곡물 피복액	

제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제5장 연구개발 성과의 성과활용 계획

제6장 참고문헌

제1장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 목적

- 꾸지뽕나무 잎과 열매의 영양성분 및 생리활성 조사
- 꾸지뽕나무 잎과 열매의 생리활성을 활용한 가공식품 개발

제2절 연구개발의 필요성

○ 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*, silkworm thorn)는 황해도 이남에서 자라는 낙엽 소교목, 관목이다 (1). 현재 무분별한 채취 및 남벌로 인하여 인적이 드문 산 및 해안에 자생하고 있다. 척박한 땅에서도 잘 자라고 병충해에 강하여 농림업 분야에서 좋은 소득작목이 될 수 있다. 식용가능한 부위는 잎과 열매이다. 암 치료성분이 함유되어 새로이 각광받는 최신 경제 수종으로 상황버섯 종균 접목, 당뇨병 및 강장제의 원료로 많이 쓰인다 (2). 민간요법에서 열매는 부인의 월경과다 증상에 마편초, 유백피와 같이 달여서 복용하며, 약물 달인 물로 눈을 씻으면 눈이 밝아진다고 알려져 있다. 민간에서 이뇨, 진해 등에 약재로 쓰인다. 여성의 통경, 어혈, 신장결석을 없앤다. 자궁암, 자궁근종에 특효약이며 위암, 식도암, 간암, 대장암, 폐암, 부인암 등에 민간요법으로 쓴다. 줄기, 줄기껍질, 잎, 열매, 뿌리를 약으로 쓴다. 가지나 줄기를 잘라 향아리에 넣고 태워 기름을 내려 쓰면 약효가 뛰어나다. 열매도 오래 먹으면 머리가 검어지고 신장기능이 좋아진다.

- 꾸지뽕나무(栲木) 잎의 맛은 싱겁고, 약간 달며 서늘하다 (3). 부스럼과 습진을 치

료한다. 소염하고 통증을 완화시키며 풍을 제거하고 혈액순환을 촉진한다. 유행성 이하선염, 폐결핵, 만성 요퇴통, 타박 勞傷, 급성 관절 挫傷을 치료한다.

꾸지뽕 열매의 성질은 평하고 맛은 쓰다. 열을 내리고 血分에서 熱邪를 제거하며 근육과 힘줄을 풀고 絡脈을 잘 통하게 한다.

柘木(산뽕나무)는 性溫, 味甘, 無毒하니 風虛耳聾과 瘡疾을 다스린다 (4).

꾸지뽕나무의 수피와 근피 (柘木白皮)는 맛이 달고 溫하며 독이 없다 (5). 부인의 崩中, 血結, 瘡疾을 치료한다. 湯液으로 술을 만들어 먹으면 風虛에 의한 청력장애, 과로에 의한 허약과 몸이 마르는 증상, 腰腎이 冷한 증상, 夢精을 다스린다.

植物 생약재의 경우 부위별 생리활성이 크기에는 차이가 있으나 비슷한 경우가 많으며 (5), 위에 제시된 바와 같이 꾸지뽕나무의 잎과 열매는 훌륭한 건강기능성을 지니고 있다.

○ 꾸지뽕나무의 줄기와 뿌리는 생약재로 쓰고, 잎과 열매를 활용하여 다양한 건강기능성 식품이 개발되어 산업화된다면, 꾸지뽕나무는 유희 농지와 산림을 활용하여 재배될 수 있는 고소득 작물이 될 수 있다.

○ 국내, 외의 꾸지뽕의 생리활성 연구는 주로 의약품 원료로 사용되는 뿌리와 줄기를 대상으로 수행되어 약물개발을 위한 기초자료가 되고 있다. 따라서 꾸지뽕을 이용한 기능성 식품을 개발하기 위하여 꾸지뽕 잎과 열매의 생리활성 및 가공방법에 관한 연구가 필요하다.

꾸지뽕나무



제3절 연구개발의 범위

- 꾸지뽕나무 잎과 열매의 수확시기별 아미노산, 지방산, 식이섬유, 당류, 광물질, 엽록소, β -sitosterol, anthocyanins, cyanidin 3-glucoside 및 polyphenols 함량 조사
- 꾸지뽕나무 잎과 열매의 혈당조절, 비만억제, 숙취해소 및 노화억제 활성 조사
- 꾸지뽕나무 잎과 열매의 가공법이 혈당조절, 비만억제, 숙취해소 및 노화억제 활성에 미치는 영향 조사

- 꾸지뽕나무 잎과 열매의 활성성분 농축법 개발
- 꾸지뽕나무 잎과 열매 추출물의 항산화 활성 조사
- 꾸지뽕나무 잎과 열매의 여러 용매 추출에 따른 항산화 활성 측정
- 꾸지뽕나무 잎과 열매 추출물에 함유된 항산화 물질의 안정성 측정
- 알긴산을 이용한 꾸지뽕나무 잎과 열매 추출물의 항산화 활성 안정화
- 꾸지뽕나무 잎과 열매의 활성 성분의 물리화학적 특성 연구
- 꾸지뽕나무 잎과 열매의 추출, 농축 및 건조 방법 개발
- 꾸지뽕나무 잎과 열매를 활용한 음료, 차, 환 및 식품첨가제 개발
- 꾸지뽕나무 잎과 열매 추출물의 향미 개량법 연구
- 꾸지뽕나무 잎과 열매를 활용한 기능성 식품첨가제 개발
- 꾸지뽕나무 잎과 열매를 활용한 국수, 피복쌀 및 술 개발

제2장 국내외 기술개발 현황

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
탐라야채마을 영농조합법인	제주산 감귤, 녹차, 꾸지뽕나무를 활용한 다이어트 음료 개발	음료 제품에 꾸지뽕나무(줄기) 추출물이 소량 사용되고 있음
원광대학교 약대 손동환	꾸지뽕나무 뿌리 껍질에서 간 보호 물질 연구 (6)	간 보호 약물 개발을 위한 기초 자료
한국생명공학 연구원 정태숙	꾸지뽕나무 뿌리 껍질에서 항산화, cytotoxic, anti-atherosclerotic 및 항염증 물질 연구 (7, 8)	약물 개발을 위한 기초 자료
충북대 약대	꾸지뽕나무 근피의 항당뇨 효과	항당뇨 약물 개발을 위한 기초 자료
원광대	꾸지뽕나무 수피의 항염증 효과	항염증 약물 개발을 위한 기초 자료
한국생명공학 연구원	꾸지뽕나무 수피에서 cytotoxic 물질 연구	항암 약물 개발을 위한 기초 자료
충북대 약대	꾸지뽕나무 열매에서 monoamine oxidase inhibitory constituents 연구	항우울증 약물 개발을 위한 기초 자료
일, Toyama Medical and Pharm. Univ.	꾸지뽕나무의 항산화 효과	
원광대	꾸지뽕나무의 항고혈압 효과	항고혈압 약물 개발을 위한 기초 자료

제3장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절 꾸지뽕잎의 영양성분 함량

표 1은 꾸지뽕잎과 일반 뽕잎 및 녹차잎의 영양성분 함량을 나타낸 것이다.

Table 1. Composition of nutrients

영양성분/100g	고성 꾸지뽕잎	타지역 꾸지뽕잎	일반 뽕잎	녹차잎
Moisture(g)	9.0	9.1	8.9	9.1
단백질(g)	34.7	35.0	24.1	29.8
식이섬유(g)	13.1	11.7	9.8	8.0
Vitamin A (μg RE)	6,005	6,050	3,470	6,925
Vitamin B ₁ (mg)	4.02	3.23	1.98	1.45
Vitamin B ₂ (mg)	3.90	3.02	1.72	1.69
Vitamin C (mg)	76	64	32	132
Calcium (mg)	1490	1276	1047	96
철 (mg)	7.81	8.03	6.73	6.8
Potassium (mg)	4,013	3,801	3,108	1,457
GABA (mg)	141	109	49	13
Rutin (mg)	704	596	233	125

꾸지뽕 잎은 녹차잎에 비하여 단백질, 식이섬유, vitamin B₁, vitamin B₂, calcium, 철, potassium, GABA(γ -amino butyric acid) 및 rutin 함량이 높았다. 또한 꾸지뽕 잎은 일반 뽕잎에 비하여 단백질, 식이섬유, vitamin A, vitamin B₁, vitamin B₂, calcium, 철, potassium, GABA 및 rutin 함량이 높았다. 특히 고성산 꾸지뽕 잎이 타지역 꾸지뽕잎에 비하여 식이섬유, vitamin B₁, vitamin B₂, vitamin C, calcium, potassium, GABA 및 rutin 함량이 높았다.

자외선 stress, 배수, 곤충, 초식동물 및 식물경쟁과 같은 성장환경 요인은 약용식물의 항산화 활성에 영향을 준다 (33-35). 고성 지역의 찬 기온, 강한 바람, 강한 햇빛,

토양 등의 자연환경이 고성산 꾸지뽕잎의 생리활성 물질의 함량을 높인 요인이라 생각된다.

식물체에서 GABA는 생물학적 또는 무생물학적 stress에 반응하여 신속하게 다량 생산된다 (36-38). GABA는 억제성 신경전달물질로 (39, 40) 뇌 혈류개선, 산소공급 증가, 뇌세포 대사기능 촉진에 의한 신경안정작용 (40), stress 해소, 기억력 증진, 혈압강하 작용, 우울증 완화, 중풍과 치매 예방, 불면, 비만, 갱년기 장애, 뇌졸중, 결장암, 대장암 등에 효과가 있다 (41, 42).

Flavone 유도체의 하나인 rutin(그림 1)은 항종양(43), 항세균, 진경 (44) 및 항암활성(45)을 지녀서 질병의 치료에 널리 쓰여왔다.

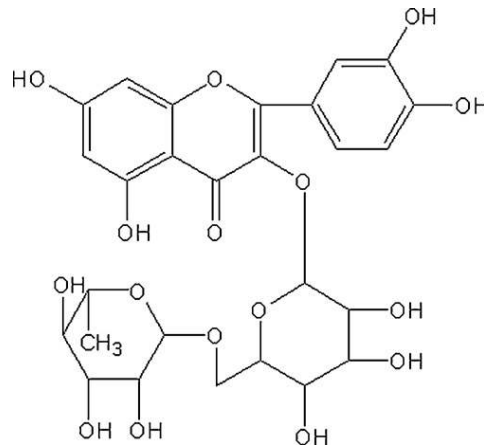


Fig. 1. The structure of rutin.

이상의 결과는 고성산 꾸지뽕잎이 우수한 생리활성을 지닌 성분을 많이 함유하여 타지역 꾸지뽕잎, 일반 뽕잎 및 녹차에 비하여 좋은 건강식품 소재로 활용될 수 있음을 보여주고 있다.

제2절 꾸지뽕 열매의 항산화성

꾸지뽕 열매의 각각의 용매로써 추출하였을 때의 추출수율을 Table 1에 나타내었다. 이 표에서 알 수 있듯이 에탄올 추출물의 수율이 55.6 g/100g 가장 높고 물 추출물의 수율이 47.7 g/100g로 그 다음으로 많았다.

Table 1. Extraction yield of *Cudrania tricuspidata* fruit with various extracting solvents¹

Solvent	Yield (g/100g dry weight)
Water	47.7±1.4 ^b
Ethyl alcohol	55.6±1.6 ^a
Chloroform	2.4±0.1 ^c
n-hexane	1.0±0.1 ^c

¹Values are means±SE of triplicate determinations. Values with different superscripts within a column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 2는 꾸지뽕 열매의 각각의 용매로써 추출하였을 때의 폴리페놀화합물의 총량을 나타낸 것이다. 물 추출물에서 532.8 µg/mg으로 가장 높았고 에탄올 추출물에서는 383.6 µg/mg으로 그 다음이었다.

꾸지뽕 열매의 각각의 용매로써 추출하였을 때의 각 용매에 추출된 물질의 DPPH radical 소거능을 첨가 농도를 달리하여 측정한 결과를 Table 3에 나타내었다. 물 추출물의 경우 첨가농도 500µg/mL까지는 95.4%의 소거능이 증가하다가 그 이상 첨가농도에서는 소거능의 변화 없었다. 에탄올 추출물의 경우, 첨가농도 3,000µg/mL까지는 소거능이 95.1% 까지 증가하다가 그 이상의 첨가농도에서는 소거능의 변화가 없었다. 첨가농도500

$\mu\text{g/mL}$ 에서는 물 추출물, 에탄올 추출물, chloroform 추출물 및 hexane 추출물 순으로 DPPH radical 소거능이 크게 나타났다.

Table 2. Contents of total polyphenolic compounds of various extracts from *Cudrania tricuspidata* fruit¹

Extract ²	Total polyphenolic compounds ($\mu\text{g}/\text{mg}$ dry weight) ³
WE	532.8 \pm 15.4 ^a
EE	383.6 \pm 11.1 ^b
CE	182.4 \pm 5.3 ^c
HE	85.7 \pm 2.5 ^d

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²WE: water extract, EE: ethanol extract, CE: chloroform extracts, HE: n-hexane extract.

³Content was expressed as tannic acid.

Table 3. Electron donating ability of various extracts from *Cudrania tricuspidata* fruit (%)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
BHA ³	81.5 \pm 2.4 ^{b4)B5)}	89.2 \pm 2.6 ^{aAB}	91.3 \pm 2.7 ^{aA}	94.5 \pm 2.7 ^{aA}	95.2 \pm 2.8 ^{aA}	95.1 \pm 2.8 ^{aA}
WE	91.8 \pm 2.7 ^a	93.1 \pm 2.7 ^a	95.4 \pm 2.7 ^a	95.1 \pm 2.8 ^a	95.1 \pm 2.8 ^a	95.1 \pm 2.8 ^a
EE	82.2 \pm 2.4 ^{bB}	89.5 \pm 2.6 ^{aAB}	91.7 \pm 2.7 ^{aA}	94.8 \pm 2.7 ^{aA}	95.1 \pm 2.8 ^{aA}	95.1 \pm 2.8 ^{aA}
CE	71.0 \pm 2.1 ^{cC}	72.1 \pm 2.1 ^{bC}	83.0 \pm 2.4 ^{bB}	89.5 \pm 2.6 ^{aAB}	94.4 \pm 2.7 ^{aA}	95.1 \pm 2.8 ^{aA}
HE	51.7 \pm 1.5 ^{dD}	58.0 \pm 1.7 ^{cC}	64.0 \pm 1.8 ^{cB}	70.5 \pm 2.0 ^{bA}	72.7 \pm 2.1 ^{bA}	74.2 \pm 2.1 ^{bA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³BHA(butylated hydroxyanisole) was used as positive reference.

꾸지뽕 열매를 각각의 용매로써 추출하였을 때의 각 용매에 추출된 물질의 hydroxyl radical 소거능을 첨가 농도를 달리하여 측정한 결과를 Table 4에 나타내었다. 물 추출물의 경우 첨가농도 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지는 95.1%의 소거능이 증가하다가 그 이상 첨가농도에서는 소거능의 큰 변화가 없었다. 에탄올 추출물의 경우, 첨가농도 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지는 소거능이 93.6% 까지 증가하였다. 모든 첨가농도에서 물 추출물, 에탄올 추출물, chloroform 추출물 및 hexane 추출물 순으로 hydroxyl radical 소거능이 크게 나타났다.

Table 4. Hydroxy radical scavenging ability of various extracts from *Cudrania tricuspidata* fruit (%)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
BHA ³	82.8 \pm 2.4 ^{bb}	89.9 \pm 2.6 ^{aa} _B	91.9 \pm 2.7 ^{aA}	93.7 \pm 2.7 ^{aA}	95.1 \pm 2.8 ^{aa}	95.1 \pm 2.8 ^{aa}
WE	94.0 \pm 2.7 ^a	95.1 \pm 2.8 ^a	95.1 \pm 2.8 ^a	95.1 \pm 2.9 ^a	95.1 \pm 2.9 ^a	95.1 \pm 2.9 ^a
EE	87.2 \pm 2.5 ^{ab}	91.5 \pm 2.7 ^a	92.5 \pm 2.7 ^a	92.9 \pm 2.8 ^a	93.1 \pm 2.8 ^a	93.6 \pm 2.4 ^a
CE	59.4 \pm 1.7 ^{cc}	65.6 \pm 1.9 ^{bb} _C	68.6 \pm 2.0 ^{baB}	72.7 \pm 2.1 ^{ba}	74.6 \pm 2.4 ^{ba}	75.4 \pm 2.5 ^{ba}
HE	43.9 \pm 1.3 ^{dd}	52.0 \pm 1.5 ^{cc}	57.7 \pm 1.7 ^{cb}	68.3 \pm 2.0 ^{ba}	71.7 \pm 2.1 ^{ba}	73.8 \pm 2.1 ^{ba}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³BHA(butylated hydroxyanisole) was used as positive reference.

꾸지뽕 열매를 각각의 용매로써 추출하였을 때의 각 용매에 추출된 물질의 SOD 활성을 첨가 농도를 달리하여 측정된 결과를 Table 5에 나타내었다. 물 추출물의 경우 첨가농도 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 에서 95.3%의 소거능이 이었으며 에탄올 추출물의 경우 87.3%, chloroform 추출물 및 hexane 추출물은 각각 63.5 및 46.3%로 나타났다.

Table 5. Pseudo-superoxide dismutase (SOD) activity of various extracts from *Cudrania tricuspidata* fruit (%)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
BHA ³	60.1 \pm 1.7 ^{bD}	74.3 \pm 2.1 ^{aC}	83.8 \pm 2.4 ^{aB}	88.6 \pm 2.5 ^{aAB}	93.3 \pm 2.7 ^{aA}	95.1 \pm 2.8 ^{aA}
WE	69.4 \pm 2.0 ^{aC}	75.4 \pm 2.2 ^{aC}	83.3 \pm 2.4 ^{aB}	88.8 \pm 2.5 ^{aAB}	93.8 \pm 2.7 ^{aA}	95.3 \pm 2.7 ^{aA}
EE	60.5 \pm 1.7 ^{bC}	64.7 \pm 1.8 ^{bC}	70.3 \pm 2.0 ^{bB}	81.1 \pm 2.4 ^{bA}	85.5 \pm 2.5 ^{bA}	87.3 \pm 2.5 ^{bA}
CE	49.7 \pm 1.4 ^{cB}	51.8 \pm 1.5 ^{cB}	54.4 \pm 1.6 ^{cB}	59.6 \pm 1.7 ^{cA}	62.2 \pm 1.8 ^{cA}	63.5 \pm 1.8 ^{cA}
HE	36.3 \pm 1.0 ^{dC}	41.2 \pm 1.2 ^{dB}	42.4 \pm 1.2 ^{dB}	43.5 \pm 1.3 ^{dB}	44.8 \pm 1.3 ^{dB}	46.3 \pm 1.3 ^{dA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³BHA(butylated hydroxyanisole) was used as positive reference.

꾸지뽕열매를 각각의 용매로써 추출하였을 때의 각 용매에 추출된 물질의 nitrite radical 소거능을 측정 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 조정하고 첨가 농도를 달리하여 측정한 결과를 Table 6에 나타내었다. pH 1.2에서 측정한 경우, 물 추출물의 첨가농도 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지는 95.7%까지 소거능이 증가하였으며 에탄올 추출물은 95.5% 까지 증가하였고 chloroform 추출물 및 hexane 추출물은 각각 70.9 및 54.8%를 나타내었다. 또한 pH 3.0에서 측정한 결과, 첨가농도를 100에서부터 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 증가시킬 때 물 첨가물의 소거능은 39.3%에서 82.4%로 증가하였으며 에탄올 추출물은 34.9%에서 51.2%로, chloroform 추출물은 29.8%에서 37.4%로, n-hexane 추출물은 23.0%에서 28.9%로 각각 증가하였다. pH 4.2에서 측정한 결과 첨가농도를 100에서부터 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 증가시킬 때 물 첨가물의 소거능은 20.7%에서 29.6%로 증가하였으며 에탄올 추출물은 13.9%에서 20.5%로, chloroform 추출물은 11.9%에서 14.9%로, n-hexane

추출물은 9.2%에서 11.5%로 각각 증가하였다. 그리고 pH 6.0에서 측정한 결과, 첨가농도를 100에서부터 5,000 μ g/mL까지 증가시킬 때 물 첨가물의 소거능은 8.9%에서 19.4%로 증가하였으며 에탄올 추출물은 7.7%에서 15.1%로, chloroform 추출물은 6.3%에서 9.8%로, n-hexane 추출물은 4.9%에서 7.6%로 각각 증가하였다.

동일한 추출물을 같은 농도로 첨가하였을 경우 측정 pH가 높아질수록 nitrite radical 소거능은 감소하였다.

Table 7은 꾸지뽕 열매를 각각의 용매로써 추출하고 추출물의 첨가농도를 100에서부터 5,000 μ g/mL까지 증가시킬 때 추출물의 환원력의 변화를 나타낸 것이다. 물 추출물의 환원력은 0.963 O.D.에서부터 증가하여 첨가농도 5,000 μ g/mL에서 2.396 O.D.으로 가장 높았고 에탄올 추출물은 0.864 O.D.로부터 증가하여 2.148 O.D.으로 그 다음이었다. Chloroform 추출물의 경우 0.655 O.D.로부터 증가하여 1.712 O.D. 이었으며 n-hexane 추출물은 0.467 O.D.에서 1.282 O.D.으로 증가하였다.

이상의 결과는 꾸지뽕 열매의 물 추출물이 많은 양의 폴리페놀 화합물을 함유하며, positive reference인 BHA(butylated hydroxyanisole)나 L-Ascorbic acid보다 높은 항산화 활성을 지님을 보여주고 있다.

Table 6. Nitrite radical scavenging ability of various extracts from *Cudrania tricuspidata* fruit at various pH (%)¹

pH	Extract ²	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)					
		100	300	500	1,000	3,000	5,000
1.2	BHA ³	44.6±1.3 ^{bD}	55.9±1.6 ^{bC}	67.2±2.0 ^{bB}	72.3±2.1 ^{bB}	88.4±2.5 ^{aA}	92.9±2.7 ^{aA}
	WE	51.3±1.5 ^{aD}	66.4±1.9 ^{aC}	76.4±2.1 ^{aB}	83.0±2.4 ^{aB}	93.3±2.7 ^{aA}	95.7±2.5 ^{aA}
	EE	44.9±1.3 ^{bD}	58.5±1.7 ^{bC}	72.5±2.1 ^{abB}	77.6±2.3 ^{abB}	91.9±2.7 ^{aA}	95.5±2.6 ^{aA}
	CE	37.1±1.1 ^{cE}	47.1±1.4 ^{cD}	53.7±1.6 ^{cC}	61.0±1.8 ^{cB}	67.8±2.0 ^{bA}	70.9±2.0 ^{bA}
	HE	28.7±0.8 ^{dE}	36.4±1.0 ^{dD}	41.5±1.2 ^{dC}	47.1±1.4 ^{dB}	52.4±1.5 ^{cA}	54.8±1.6 ^{cA}
3.0	BHA	34.2±1.0 ^{bD}	37.8±1.1 ^{bD}	52.2±1.5 ^{bC}	64.9±1.8 ^{bB}	69.3±2.0 ^{bAB}	70.9±2.0 ^{bA}
	WE	39.3±1.2 ^{aE}	44.9±1.3 ^{aD}	59.3±1.7 ^{aC}	73.3±2.1 ^{aB}	78.8±1.8 ^{aA}	82.4±2.4 ^{aA}
	EE	34.9±1.0 ^{bD}	38.9±1.1 ^{bC}	41.9±1.2 ^{cBC}	44.8±1.3 ^{cB}	49.1±1.4 ^{cA}	51.2±1.5 ^{cA}
	CE	29.8±0.9 ^{cD}	31.6±0.9 ^{cCD}	33.1±1.0 ^{dBC}	35.3±1.0 ^{dAB}	36.6±1.0 ^{dA}	37.4±1.1 ^{dA}
	HE	23.0±0.7 ^{dD}	24.4±0.7 ^{dCD}	25.6±0.8 ^{eBC}	27.3±0.8 ^{eAB}	28.3±0.8 ^{eA}	28.9±0.8 ^{eA}
4.2	BHA	18.0±0.5 ^{bC}	19.3±0.6 ^{bC}	21.7±0.6 ^{bB}	23.4±0.7 ^{bAB}	25.1±0.8 ^{bA}	25.5±0.8 ^{bA}
	WE	20.7±0.6 ^{aD}	22.9±0.6 ^{aCD}	24.7±0.7 ^{aBC}	26.4±0.8 ^{aB}	28.8±0.8 ^{aA}	29.6±0.9 ^{aA}
	EE	13.9±0.4 ^{cD}	15.5±0.5 ^{cC}	16.8±0.5 ^{cBC}	17.9±0.5 ^{cB}	19.6±0.6 ^{cA}	20.5±0.6 ^{cA}
	CE	11.9±0.3 ^{dC}	12.6±0.3 ^{dBC}	13.2±0.4 ^{dB}	13.7±0.4 ^{dAB}	14.6±0.4 ^{dA}	14.9±0.4 ^{dA}
	HE	9.2±0.3 ^{eC}	9.7±0.3 ^{eBC}	10.2±0.3 ^{eB}	10.6±0.3 ^{eAB}	11.3±0.3 ^{eA}	11.5±0.3 ^{eA}
6.0	BHA	7.7±0.2 ^{bD}	8.7±0.2 ^{bD}	11.1±0.3 ^{bC}	14.5±0.4 ^{bB}	16.1±0.5 ^{bA}	16.7±0.5 ^{bA}
	WE	8.9±0.2 ^{aD}	9.4±0.3 ^{aD}	12.6±0.3 ^{aC}	16.4±0.5 ^{aB}	18.5±0.5 ^{aA}	19.4±1.6 ^{aA}
	EE	7.7±0.3 ^{bE}	8.8±0.3 ^{bD}	10.4±0.3 ^{bC}	13.0±0.4 ^{cB}	14.4±0.4 ^{cA}	15.1±0.5 ^{cA}
	CE	6.3±0.2 ^{cD}	6.8±0.2 ^{cD}	7.6±0.2 ^{cC}	8.8±0.2 ^{dB}	9.5±0.3 ^{dAB}	9.8±0.3 ^{dA}
	HE	4.9±0.1 ^{dD}	5.3±0.2 ^{dD}	5.9±0.2 ^{dC}	6.8±0.2 ^{eB}	7.3±0.2 ^{eAB}	7.6±0.2 ^{eA}

¹Values are means±SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³BHA(butylated hydroxyanisole) was used as positive reference.

Table 7. Reducing power of various extracts from *Cudrania tricuspidata* fruit (Absorbance at 700 nm)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
L-Ascorbic acid ³	0.837 \pm 0.024 ^{bF}	1.196 \pm 0.035 ^{bE}	1.353 \pm 0.039 ^{bD}	1.573 \pm 0.046 ^{bC}	1.916 \pm 0.055 ^{bB}	2.076 \pm 0.060 ^{bA}
WE	0.963 \pm 0.028 ^{aE}	1.303 \pm 0.038 ^{aD}	1.610 \pm 0.047 ^{aC}	1.806 \pm 0.052 ^{aB}	2.281 \pm 0.066 ^{aA}	2.396 \pm 0.069 ^{aA}
EE	0.864 \pm 0.025 ^{bE}	1.147 \pm 0.033 ^{bD}	1.397 \pm 0.040 ^{bC}	1.624 \pm 0.047 ^{bB}	2.037 \pm 0.035 ^{bA}	2.148 \pm 0.062 ^{bA}
CE	0.655 \pm 0.019 ^{dD}	0.871 \pm 0.025 ^{cC}	1.109 \pm 0.032 ^{cB}	1.162 \pm 0.033 ^{cB}	1.647 \pm 0.047 ^{cA}	1.712 \pm 0.050 ^{cA}
HE	0.467 \pm 0.013 ^d _D	0.621 \pm 0.018 ^{cC}	0.786 \pm 0.023 ^{cB}	0.811 \pm 0.024 ^{cB}	1.251 \pm 0.036 ^{dA}	1.282 \pm 0.037 ^{dA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³L-Ascorbic acid was used as positive reference.

Table 8은 꾸지뽕 열매의 각각의 용매로써 추출하고 추출물의 첨가농도를 100에서부터 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 까지 증가시킬 때 추출물의 xanthine oxidase 억제능의 변화를 나타낸 것이다. 물 추출물의 경우 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 까지 첨가농도를 증가시킬 때 억제능은 61.3%에서 94.7%까지 증가하였으나 그 이상의 농도에서는 큰 변화가 없었다. 에탄올 추출물의 경우 첨가농도 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 51.9 %를 나타내었다가 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 로 첨가농도를 증가함에 따라 94.7%로 증가하였다. Chloroform 추출물과 n-hexane 추출물도 각각 38.7%에서 62.2%로, 29.9%에서 47.7%로 증가하였다.

당뇨쥐에서 superoxide를 생성하는 효소인 xanthine oxidase가 혈장과 간에서 증가한다 (30). Xanthine oxidase는 간에서 혈장으로 나와 혈관의 내피세포에 부착한다. 대조

토끼와는 달리, 당뇨 토끼의 arterial ring은 xanthine이 있으면 superoxide를 생산한다. 위의 결과는 꾸지뽕 열매의 물 추출물이 당뇨병을 억제할 수 있는 가능성을 보여주고 있다.

Table 8. Inhibitory ability for xanthine oxidase of various extracts from *Cudrania tricuspidata* fruit (%)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
L-ascorbic acid ³	63.3 \pm 1.8 ^{aC}	86.0 \pm 2.5 ^{aB}	91.3 \pm 2.7 ^{aAB}	92.5 \pm 2.7 ^{aAB}	94.7 \pm 2.7 ^{aA}	95.7 \pm 2.5 ^{aA}
WE	61.3 \pm 1.8 ^{aC}	86.1 \pm 2.5 ^{aB}	92.0 \pm 2.7 ^{aAB}	94.7 \pm 2.7 ^{aA}	95.7 \pm 2.5 ^{aA}	95.9 \pm 2.4 ^{aA}
EE	51.9 \pm 1.5 ^{bD}	74.6 \pm 2.1 ^{bC}	83.9 \pm 2.4 ^{bB}	88.4 \pm 2.5 ^{aAB}	91.8 \pm 2.7 ^{aA}	94.7 \pm 2.7 ^{aA}
CE	38.7 \pm 1.1 ^{cD}	47.1 \pm 1.4 ^{cC}	53.9 \pm 1.6 ^{cB}	59.9 \pm 1.7 ^{bA}	61.3 \pm 1.8 ^{bA}	62.2 \pm 1.8 ^{bA}
HE	29.9 \pm 0.9 ^{dD}	36.4 \pm 1.0 ^{dC}	41.6 \pm 1.2 ^{dB}	46.3 \pm 1.3 ^{cA}	47.4 \pm 1.4 ^{cA}	47.7 \pm 1.4 ^{cA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³L-Ascorbic acid was used as positive reference.

Table 9는 꾸지뽕 열매를 각각의 용매로써 추출하고 추출물의 첨가농도를 100에서부터 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 증가시킬 때 추출물의 tyrosinase oxidase 억제능의 변화를 나타낸 것이다. 물 추출물의 경우 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 첨가농도를 증가시킬 때 억제능은 58.8%에서 96.3%까지 증가하였고 에탄올 추출물의 경우 첨가농도 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 46.1 %를 나타내었다가 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 첨가농도를 증가함에 따라 94.8%로 증가하였다. Chloroform 추출물과 n-hexane 추출물도 각각 32.9%에서 73.0%로, 25.4%에서 56.4%로 증가하였다.

Tyrosinase는 monophenolic 화합물을 o-diphenols로 hydroxylation하고

o-diphenols를 o-quinones로 산화시킨다 (31). 따라서 이 효소는 tyrosine을 L-3,4-dihydroxyphenylalanine(L-DOPA)로 변화시키거나, L-DOPA를 DOPAquinone으로 산화시킨다 (32). 이 과정은 동물 피부색의 결정인자이고, 기미, 주근깨 및 흑점과 같은 부분적 과색소증에 관련된다. 위의 결과는 꾸지뽕 열매의 물 추출물의 미백활성을 보여주는 것이다.

Table 9. Inhibitory ability for tyrosinase of various extracts from *Cudrania tricuspidata* fruit (%)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
L-ascorbic acid ³	56.1 \pm 1.6 ^{aE}	63.1 \pm 1.8 ^{aD}	76.0 \pm 2.2 ^{aC}	88.5 \pm 2.5 ^{aB}	93.5 \pm 2.7 ^{aAB}	96.4 \pm 2.1 ^{aA}
WE	58.8 \pm 1.7 ^{aC}	63.7 \pm 2.0 ^{aC}	78.5 \pm 2.3 ^{aB}	90.1 \pm 2.6 ^{aA}	95.8 \pm 2.4 ^{aA}	96.3 \pm 2.1 ^{aA}
EE	46.1 \pm 1.3 ^{bD}	63.2 \pm 1.8 ^{aC}	72.0 \pm 2.3 ^{aB}	88.5 \pm 2.4 ^{aA} _B	93.3 \pm 2.5 ^{aA}	94.8 \pm 2.5 ^{aA}
CE	32.9 \pm 0.9 ^{cD}	46.2 \pm 1.3 ^{bC}	62.8 \pm 1.8 ^{bB}	68.3 \pm 2.0 ^{bA}	71.7 \pm 2.1 ^{bA}	73.0 \pm 2.1 ^{bA}
HE	25.4 \pm 0.8 ^{dD}	35.7 \pm 1.0 ^{cC}	48.5 \pm 1.4 ^{cB}	52.8 \pm 1.5 ^{cA}	55.4 \pm 1.6 ^{cA}	56.4 \pm 1.6 ^{cA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³L-Ascorbic acid was used as positive reference.

Table 10은 꾸지뽕 열매의 물과 ethanol 용매로써 추출하였을 때의 폴리페놀화합물의 총량을 나타낸 것이다. 물 추출물에서 532.8 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 가장 높았고 에탄올 추출물에서는 383.6 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 그 다음이었다.

Table 10. Contents of total polyphenolic compounds of water and ethanol extract from *Cudrania tricuspidata* fruit

Extracting solvent	Total polyphenolic compounds ($\mu\text{g}/\text{mg}$, dry weight)
Water	532.8 \pm 15.4
Ethanol	383.6 \pm 11.1

1차년도 연구결과에서 꾸지뽕의 열매, 잎 및 줄기 가운데서 가장 항산화성이 높았던 열매의 물과 ethanol 추출물의 항산화성 안정성을 조사하기 위하여 물과 ethanol로써 추출하고, 추출된 물질을 진공동결 건조하여 물과 ethanol에 각각 일정 농도씩 용해하였다. 용해된 물질을 pH를 각각 4.0, 5.0, 6.0 및 7.0으로 조절한 후 25℃에 보관하면서 저장 기간에 따라 각각의 항산화성을 측정하였다. 추출물의 측정농도는 전년도의 결과에서 가장 항산화성이 높게 나타난 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 하였다.

Table 11과 12에 물과 ethanol 추출물에 대한 저장일수에 따른 환원력의 변화를 나타내었다. 물 추출물의 환원력변화는 저장 기간의 증가함에 따라 일정하게 감소하는 경향을 나타내며 pH값의 변화에 큰 차이를 나타내지 않았다. 그러나 ethanol 추출물은 pH 5.0, 6.0 및 7.0에서는 pH값의 변화에 따른 큰 변화가 없었지만 pH 4.0에서는 다른 pH 값에 비하여 환원력이 급격하게 감소하였다.

Table 11. Changes of reducing power of water extract from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

(absorbance at 700nm)				
pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	0.9206±0.019	0.8574±0.003	0.8056±0.013	0.7332±0.002
5.0	0.9206±0.019	0.8582±0.004	0.8040±0.001	0.7426±0.004
6.0	0.9206±0.019	0.8406±0.003	0.7894±0.002	0.7526±0.004
7.0	0.9206±0.019	0.8666±0.002	0.7574±0.007	0.7222±0.003

Table 12. Changes of reducing power of ethanol extract from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

(absorbance at 700nm)				
pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	0.9042±0.001	0.5556±0.007	0.3262±0.013	0.2710±0.004
5.0	0.9042±0.001	0.8302±0.005	0.7464±0.006	0.7322±0.003
6.0	0.9042±0.001	0.8374±0.002	0.7532±0.004	0.7464±0.004
7.0	0.9042±0.001	0.8690±0.007	0.7534±0.002	0.7248±0.017

Table 13와 14에 물과 ethanol 추출물에 대한 저장일수에 따른 DPPH radical 소거능의 변화를 나타내었다.

Table 13. Changes of Electron donating ability of water extract from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	82.50±0.40	72.39±0.35	69.89±0.65	69.51±0.74
5.0	82.50±0.40	71.62±0.25	68.72±0.76	67.80±1.03
6.0	82.50±0.40	66.62±0.26	65.95±0.49	63.14±1.59
7.0	82.50±0.40	50.42±0.57	49.45±0.78	32.98±0.92

Table 14. Changes of Electron donating ability of ethanol extract from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	82.50±0.40	79.50±0.61	76.26±0.65	75.06±0.40
5.0	82.50±0.40	74.41±0.78	71.29±0.54	69.49±0.52
6.0	82.50±0.40	71.34±0.61	70.84±1.01	69.77±0.40
7.0	82.50±0.40	68.12±0.39	66.03±0.43	63.45±0.84

물 추출물의 DPPH radical 소거능 변화에 있어서 pH 7.0의 경우 다른 pH에 비하여 급격히 감소하는 경향을 나타내었다.

그리고 ethanol 추출물에서는 pH 4.0일 때가 다른 pH에 비하여 DPPH radical 소거능의 감소속도가 느리다는 것을 알수 있었다.

Table 15와 16에 물과 ethanol 추출물에 대한 저장일수에 따른 hydroxy radical 소거능의 변화를 나타내었다.

물 추출물의 hydroxy radical 소거능 변화는 저장 기간에 따라 약간씩 감소하였는데, pH 7.0일 때 저장 42일 만에 98.5%에서 63.25%로 가장 빠르게 감소하였다.

Ethanol 추출물에서는 93.95%에서 저장 42일 후에는 79.97% ~ 84.25%로 거의 변화가 없는 것으로 나타났다.

Table 15. Changes of Hydroxy radical scavenging ability of water extract from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	98.50±4.65	92.11±2.29	84.20±1.04	82.04±1.50
5.0	98.50±4.65	89.69±2.38	79.51±1.78	78.28±4.27
6.0	98.50±4.65	86.32±1.11	78.98±1.25	70.90±2.50
7.0	98.50±4.65	81.99±0.46	68.76±1.95	63.25±3.37

Table 16. Changes of Hydroxy radical scavenging ability of ethanol extract from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	93.95±1.78	87.05±1.31	86.38±3.08	84.25±0.97
5.0	93.95±1.78	81.76±0.99	83.67±1.31	80.76±2.04
6.0	93.95±1.78	88.71±1.09	88.42±1.13	80.21±1.02
7.0	93.95±1.78	83.58±1.10	82.02±0.67	79.97±1.23

Table 17~24에 물과 ethanol 추출물에 대한 저장일수에 따른 nitrite radical 소거능의 변화를 나타내었다.

Table 17과 18은 pH 1.2에서의 소거능을 나타내었는데 물 추출물의 소거능은 94.95%에서 저장 42일 후에는 82.39~86.10 %로 다소 감소하였으나 ethanol 추출물에서는 거의 감소하지 않은 것으로 나타났다.

Table 17. Changes of nitrite radical scavenging ability (measured at pH 1.2) of water extract from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

(%)				
pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	97.68±3.17	90.10±2.41	86.84±3.26	84.60±3.40
5.0	97.68±3.17	92.19±2.06	85.74±3.67	84.12±2.53
6.0	97.68±3.17	89.83±1.99	87.81±3.24	86.10±2.77
7.0	97.68±3.17	91.45±2.13	84.40±3.19	82.39±1.88

Table 18. Changes of nitrite radical scavenging ability of ethanol extract (measured at pH 1.2) from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

(%)				
pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	94.95±1.72	97.61±2.67	97.24±1.40	91.70±3.45
5.0	94.95±1.72	97.66±3.76	90.85±5.19	93.37±2.31
6.0	94.95±1.72	95.94±3.63	92.44±3.68	99.69±1.88
7.0	94.95±1.72	96.14±5.28	88.26±2.16	92.48±2.80

Table 19와 20은 pH 3.0에서의 소거능을 나타내었는데 물 추출물의 소거능은 79.55%에서 저장 42일 후에는 pH 4.0에서는 61.18%, 5.0일 경우 62.55%, 6.0일 경우, 64.39%. 7.0일 때 63.07%를 각각 나타내어 pH 5.0일 때가 소거능의 감소속도가 가장 낮게 나타났다. Ethanol 추출물에서는 초기 56.93%이었던 것이 저장 42일이 경과한 후에도 61.21~68.97%로 오히려 증가한 것으로 보아 거의 감소하지 않은 것으로 나타났다.

Table 19. Changes of nitrite radical scavenging ability (measured at pH 3.0) of water extract from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	79.55±1.26	70.74±1.56	64.05±1.79	61.18±1.88
5.0	79.55±1.26	69.52±2.01	64.29±1.30	62.55±2.04
6.0	79.55±1.26	71.86±1.77	69.85±2.12	64.39±2.30
7.0	79.55±1.26	71.07±1.66	66.77±1.51	63.07±1.59

Table 20. Changes of nitrite radical scavenging ability of ethanol extract (measured at pH 3.0) from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	56.93±2.73	61.10±2.51	55.91±2.35	65.70±2.72
5.0	56.93±2.73	61.32±2.42	58.97±3.48	68.97±4.61
6.0	56.93±2.73	61.65±1.93	57.99±1.16	64.14±2.77
7.0	56.93±2.73	61.42±3.36	63.76±2.30	61.21±8.18

Table 21 ~ 24에 pH 4.2와 6.0에서의 소거능을 각각 나타내었는데 측정하는 pH에 관계없이 물 추출물의 소거능은 저장 42일 후에는 약간 감소하였으나 ethanol 추출물에서는 거의 감소하지 않은 것으로 나타났다.

Table 21. Changes of nitrite radical scavenging ability (measured at pH 4.2) of water extract from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	31.76±1.80	28.73±3.05	24.90±2.42	23.55±2.67
5.0	31.76±1.80	28.23±1.78	24.66±2.22	25.29±1.68
6.0	31.76±1.80	27.50±3.03	24.95±1.94	23.31±2.40
7.0	31.76±1.80	24.97±2.14	26.86±1.98	24.70±2.07

Table 22. Changes of nitrite radical scavenging ability of ethanol extract (measured at pH 4.2) from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	20.92±1.79	36.50±1.45	28.40±2.22	27.44±2.79
5.0	20.92±1.79	24.27±3.39	23.91±3.17	21.30±2.03
6.0	20.92±1.79	23.96±3.29	22.08±2.59	18.82±2.36
7.0	20.92±1.79	23.81±2.75	23.07±2.03	19.16±4.59

Table 23. Changes of nitrite radical scavenging ability (measured at pH 6.0) of water extract from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	33.73±2.33	26.98±2.18	25.61±2.27	24.71±3.01
5.0	33.73±2.33	28.47±2.53	27.36±2.74	23.89±2.40
6.0	33.73±2.33	27.16±2.81	27.69±2.40	22.38±2.55
7.0	33.73±2.33	28.00±1.85	27.79±1.90	22.49±2.65

Table 24. Changes of nitrite radical scavenging ability of ethanol extract (measured at pH 6.0) from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	32.88±2.47	32.20±3.35	28.22±2.89	29.76±2.31
5.0	32.88±2.47	30.73±2.55	26.31±2.02	29.76±2.12
6.0	32.88±2.47	31.27±2.33	29.15±3.87	29.76±2.12
7.0	32.88±2.47	32.75±3.15	27.70±2.45	30.59±2.06

Table 25와 26은 물과 ethanol 추출물에 대한 pH별, 저장일수에 따른 tyrosinase 저해능의 변화를 나타내었다.

물 추출물에 있어서 저장 초기의 저해능은 모든 pH에서 90.84 ~ 93.48%를 나타내었다가 차츰 감소하여 저장 42일 후에는 50.48 ~ 57.29%를 나타내었으나 ethanol 추출물에 있어서는 저장 42일 후에도 tyrosinase 저해능은 거의 변하지 않는 것으로 나타났다.

Table 25. Changes of inhibitory ability of tyrosinase for water extract from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	93.48±2.43	63.08±3.36	60.88±3.33	50.48±3.52
5.0	90.84±4.47	64.17±3.37	57.47±3.36	54.65±4.35
6.0	91.31±3.07	60.78±3.41	55.10±3.30	57.29±4.03
7.0	92.44±2.13	60.22±3.38	58.79±3.51	54.64±3.74

(%)

Table 26. Changes of inhibitory ability of tyrosinase for ethanol extract from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	93.48±2.43	92.05±3.47	86.97±2.33	87.56±0.94
5.0	90.84±4.47	89.90±2.73	90.43±3.66	84.69±0.57
6.0	91.31±3.07	92.67±2.02	90.46±2.22	82.34±1.08
7.0	92.44±2.13	94.19±1.70	96.29±1.94	86.57±0.59

(%)

Table 27과 28은 물과 ethanol 추출물에 대한 pH별, 저장일수에 따른 superoxide dismutase(SOD) 저해능의 변화를 나타내었다.

물 추출물의 SOD 저해능은 pH 4.0과 7.0일 때 초기 95.83%이었던 것이 저장 42일 후에는 각각 47.23와 43.99%로 급격하게 감소하였으며, pH 5.0과 6.0에서는 95.83%에서 각각 70.60과 76.08%를 나타내어 다소 감소하였으나 pH 4.0과 7.0보다는 감소속도가 낮은 것으로 나타나 안정도가 큰 것으로 나타났다.

Ethanol 추출물에 있어서는 pH 5.0, 6.0 및 7.0에서는 42일 저장 후에 각각 62.47, 56.57 및 61.24%를 나타내어 저장기간 경과함에 따라 감소하였다. 그러나 pH 4.0의 경우에는 저장 42일 이 후에도 SOD 저해능이 감소하지 않는 것으로 나타났다.

Table 27. Changes of Pseudo-superoxide dismutase (SOD) activity for water extract from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	95.83±3.31	89.80±2.52	84.12±4.44	47.23±3.23
5.0	95.83±3.31	82.63±2.29	91.49±2.48	70.60±7.64
6.0	95.83±3.31	94.48±1.10	88.46±3.55	76.08±4.68
7.0	95.83±3.31	87.93±0.07	85.09±3.38	43.99±4.59

Table 28. Changes of Pseudo-superoxide dismutase (SOD) activity for ethanol extract from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	85.38±2.52	97.70±1.59	96.56±0.13	97.08±1.74
5.0	85.38±2.52	79.16±4.19	67.82±2.69	62.47±3.75
6.0	85.38±2.52	74.89±4.01	63.07±2.63	56.57±2.89
7.0	85.38±2.52	67.10±5.49	65.50±4.97	61.24±2.33

Table 29와 30은 물과 ethanol 추출물에 대한 pH별, 저장일수에 따른 xanthin oxidase 저해능의 변화를 나타내었다.

물 추출물의 경우 초기에 94.35%를 나타내었다가 저장 42일 후에는 pH 4.0, 5.0, 6.0 및 7.0에서 각각 24.13, 28.14, 12.45 및 21.36%를 나타내어 70% 전후로 감소하였다. 그 중 pH 6.0에서의 감소속도가 다른 pH의 경우보다 빠른 것으로 나타났다.

Ethanol 추출물의 경우 초기에 xanthin oxidase 저해능이 94.35%를 나타내었다가 저장 42일 후에는 pH 4.0, 5.0, 6.0 및 7.0에서 각각 67.21, 60.21, 38.36 및 31.27%를 나타내어 다소 감소하였다. 그 중 특히 xanthin oxidase 저해능의 감소속도가 빠른 pH는 6.0과 7.0 이었다. 그리고 pH가 증가할수록 감소속도가 빠른 것으로 나타났다. 또한 ethanol 추출물의 감소속도는 물 추출물과 비교해 볼 때 매우 늦은 것으로 나타났다.

Table 29. Changes of inhibitory ability of xanthine oxidase for water extract from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

(%)				
pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	94.35±9.92	81.65±8.49	69.42±7.22	24.13±14.34
5.0	94.35±9.92	63.09±7.63	44.50±12.97	28.14±19.28
6.0	94.35±9.92	50.64±7.75	30.21±7.93	12.45±10.01
7.0	94.35±9.92	64.37±8.74	39.65±7.83	21.36±12.99

Table 30. Changes of inhibitory ability of xanthine oxidase for ethanol extract from *Cudrania tricuspidata* fruit during storage at 25°C after controlling various pHs.

(%)				
pH	Storage Time(days)			
	0	10	21	42
4.0	96.58±2.71	87.70±5.25	82.12±6.75	67.21±7.75
5.0	96.58±2.71	85.20±8.74	75.79±5.42	60.21±7.84
6.0	96.58±2.71	84.05±6.26	63.03±5.86	38.36±7.57
7.0	96.58±2.71	82.65±4.38	62.10±6.20	31.27±9.12

제3절 꾸지뽕 잎의 항산화성

꾸지뽕 잎을 각각의 용매로써 추출하였을 때의 추출수율을 Table 1에 나타내었다. 이 표에서 알 수 있듯이 에탄올 추출물의 수율이 52.0 g/100g 가장 높고 물 추출물의 수율이 41.9 g/100g로 그 다음으로 많았다.

Table 1. Extraction yield of *Cudrania tricuspidata* leaf with extracting solvents¹

Solvent	Yield (g/100 g, dry weight)
Water	41.9±1.2 ^b
Ethyl alcohol	52.0±1.5 ^a
Chloroform	4.7±0.1 ^c
n-hexane	1.6±0.1 ^c

¹Values are means±SE of triplicate determinations. Values with different superscripts within a column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 2는 꾸지뽕 잎을 각각의 용매로써 추출하였을 때의 폴리페놀화합물의 총량을 나타낸 것이다. 물 추출물에서 355.2 µg/mg으로 가장 높았고 에탄올 추출물에서는 255.5 µg/mg으로 그 다음이었다.

꾸지뽕 잎을 각각의 용매로써 추출하였을 때의 각 용매에 추출된 물질의 DPPH radical 소거능을 첨가 농도를 달리하여 측정한 결과를 Table 3에 나타내었다. 물 추출물의 경우 첨가농도 1,000µg/mL까지는 95.0%로 소거능이 증가하다가 그 이상 첨가농도에서는 소거능의 거의 변화가 없었다. 에탄올 추출물의 경우, 첨가농도 100µg/mL 에서 소거능이 74.8% 이었던 것이 첨가농도 5,000µg/mL에서는 93.8%로 소거능이 증가하였다. 첨가농도 1,000µg/mL에서는 물 추출물, 에탄올 추출물, chloroform 추출물 및 hexane 추출물 순으로 DPPH radical 소거능이 크게 나타났다.

Table 2. Contents of total polyphenolic compounds of various extracts from *Cudrania tricuspidata* leaf¹

Extract ²	Total polyphenolic compounds ($\mu\text{g}/\text{mg}$, dry weight) ³
WE	355.2 \pm 10.3 ^a
EE	255.6 \pm 7.4 ^b
CE	140.4 \pm 4.0 ^c
HE	75.7 \pm 2.2 ^d

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²WE: water extract, EE: ethanol extract, CE: chloroform extracts, HE: n-hexane extract.

³Content was expressed as tannic acid.

Table 3. Electron donating ability of various extracts from *Cudrania tricuspidata* leaf (%)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
BHA ³	81.5 \pm 2.4 ^{aB}	89.2 \pm 2.6 ^{aAB}	91.3 \pm 2.7 ^{abA}	94.5 \pm 2.7 ^{aA}	95.2 \pm 2.8 ^{aA}	95.1 \pm 2.8 ^{aA}
WE	81.2 \pm 2.4 ^{aC}	85.4 \pm 2.5 ^{abBC}	93.6 \pm 2.7 ^{aAB}	95.0 \pm 2.8 ^{aA}	95.1 \pm 2.8 ^{aA}	95.1 \pm 2.9 ^{aA}
EE	74.8 \pm 2.1 ^{abD}	79.7 \pm 2.3 ^{bcCD}	84.5 \pm 2.4 ^{bcBC}	88.2 \pm 2.5 ^{abAB}	90.2 \pm 2.6 ^{aAB}	93.8 \pm 2.7 ^{aA}
CE	68.5 \pm 2.0 ^{bd}	77.0 \pm 2.0 ^{cC}	80.4 \pm 2.3 ^{cBC}	85.4 \pm 2.5 ^{bAB}	87.2 \pm 2.5 ^{aAB}	89.3 \pm 2.6 ^{aA}
HE	49.9 \pm 1.4 ^{cC}	54.4 \pm 1.6 ^{dC}	61.6 \pm 1.8 ^{dB}	66.9 \pm 1.9 ^{cAB}	70.6 \pm 2.0 ^{bA}	71.7 \pm 2.1 ^{bA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³BHA(butylated hydroxyanisole) was used as positive reference.

꾸지뽕 잎을 각각의 용매로써 추출하였을 때의 각 용매에 추출된 물질의 hydroxyl radical 소거능을 첨가 농도를 달리하여 측정한 결과를 Table 4에 나타내었다. 물 추출물의 경우 첨가농도 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 95.1%로 소거능이 계속 증가하였고 에탄올 추출물의 경우도, 첨가농도 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 소거능이 95.1%로 증가하여 물 추출물과 비슷하였다. 모든 첨가농도에서 물 추출물, 에탄올 추출물, chloroform 추출물 및 hexane 추출물 순으로 hydroxyl radical 소거능이 크게 나타났다.

Table 4. Hydroxy radical scavenging ability of various extracts from *Cudrania tricuspidata* leaf (%)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
BHA ³	82.8 \pm 2.4 ^{aB}	89.9 \pm 2.6 ^{aAB}	91.9 \pm 2.7 ^{aA}	93.7 \pm 2.7 ^{aA}	95.1 \pm 2.8 ^{aA}	95.1 \pm 2.8 ^{aA}
WE	86.0 \pm 2.5 ^{aB}	89.2 \pm 2.6 ^{aAB}	90.7 \pm 2.6 ^{aAB}	93.2 \pm 2.7 ^{aAB}	94.3 \pm 2.1 ^{aA} _B	95.1 \pm 2.8 ^{aA}
EE	74.8 \pm 2.1 ^{bC}	84.3 \pm 2.4 ^{aB}	88.3 \pm 2.5 ^{aAB}	91.9 \pm 1.5 ^{aAB}	94.7 \pm 2.7 ^{aA}	95.1 \pm 2.8 ^{aA}
CE	54.9 \pm 1.6 ^{cC}	59.7 \pm 1.7 ^{bBC}	62.0 \pm 1.8 ^{bB}	69.0 \pm 2.0 ^{bA}	70.5 \pm 2.0 ^{bA}	71.1 \pm 2.1 ^{bA}
HE	42.8 \pm 1.2 ^{dE}	50.0 \pm 1.4 ^{dD}	55.5 \pm 1.6 ^{bC}	60.9 \pm 1.7 ^{cB}	66.2 \pm 1.9 ^{bA}	66.3 \pm 1.9 ^{bA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³BHA(butylated hydroxyanisole) was used as positive reference.

꾸지뽕 잎을 각각의 용매로써 추출하였을 때의 각 용매에 추출된 물질의 SOD 활성을 첨가 농도를 달리하여 측정한 결과를 Table 5에 나타내었다. 물 추출물의 경우 첨가농도 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 83.5%의 소거능이 이었으며 에탄올 추출물의 경우 71.5%,

chloroform 추출물 및 hexane 추출물은 각각 58.1 및 44.9%로 나타났다.

Table 5. Pseudo-superoxide dismutase (SOD) activity of various extracts from *Cudrania tricuspidata* leaf (%)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
BHA ³	60.1 \pm 1.7 ^{aD}	74.3 \pm 2.1 ^{aC}	83.8 \pm 2.4 ^{aB}	88.6 \pm 2.5 ^{aAB}	93.3 \pm 2.7 ^{aA}	95.1 \pm 2.8 ^{aA}
WE	59.6 \pm 1.7 ^{aC}	63.6 \pm 1.8 ^{bBC}	68.9 \pm 2.0 ^{bB}	79.2 \pm 2.3 ^{bA}	82.5 \pm 2.4 ^{bA}	83.5 \pm 2.4 ^{bA}
EE	53.7 \pm 1.6 ^{bC}	56.5 \pm 1.6 ^{cBC}	60.2 \pm 1.7 ^{cB}	67.4 \pm 2.0 ^{cA}	70.3 \pm 2.0 ^{cA}	71.5 \pm 2.1 ^{cA}
CE	47.5 \pm 1.4 ^{cC}	49.1 \pm 1.4 ^{dC}	51.1 \pm 1.5 ^{dBC}	55.1 \pm 1.6 ^{dAB}	57.1 \pm 1.7 ^{dA}	58.1 \pm 1.7 ^{dA}
HE	34.2 \pm 1.0 ^{dD}	36.4 \pm 1.0 ^{eCD}	38.6 \pm 1.1 ^{eBC}	41.5 \pm 1.2 ^{eAB}	43.0 \pm 1.3 ^{eA}	44.9 \pm 1.3 ^{eA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³BHA(butylated hydroxyanisole) was used as positive reference.

꾸지뽕 잎을 각각의 용매로써 추출하였을 때의 각 용매에 추출된 물질의 nitrite radical 소거능을 측정 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 조정하고 첨가 농도를 달리하여 측정한 결과를 Table 6에 나타내었다. pH 1.2에서 측정한 경우, 물 추출물의 첨가농도가 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 까지 증가함에 따라 91.8%까지 소거능이 증가하였으며 에탄올 추출물은 82.3% 까지 증가하였고 chloroform 추출물 및 hexane 추출물은 각각 61.5 및 47.5%까지 증가하였다. 또한 pH 3.0에서 측정한 결과, 첨가농도를 100에서부터 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 까지 증가시킬 때 물 첨가물의 소거능은 34.5%에서 69.9%로 증가하였으며 에탄올 추출물은 31.6%에서 42.5%로, chloroform 추출물은 28.7%에서 34.6%로, n-hexane 추출물은 22.1%에서 26.7%로 각각 증가하였다. pH 4.2에서 측정한 결과

첨가농도를 100 μ g/mL에서부터 5,000 μ g/mL까지 증가시킬 때 물 첨가물의 소거능은 18.8%에서 25.0%로 증가하였으며 에탄올 추출물은 12.6%에서 17.0%로, chloroform 추출물은 11.5%에서 13.8%로, n-hexane 추출물은 8.9%에서 10.7%로 각각 증가하였다. 그리고 pH 6.0에서 측정한 결과, 첨가농도를 100 μ g/mL에서 5,000 μ g/mL까지 증가시킬 때 물 첨가물의 소거능은 7.6%에서 14.6%로 증가하였으며 에탄올 추출물은 6.8%에서 11.7%로, chloroform 추출물은 6.0%에서 8.7%로, n-hexane 추출물은 4.6%에서 6.7%로 각각 증가하였다.

동일한 추출물을 같은 농도로 첨가하였을 경우 측정 pH가 높아질수록 nitrite radical 소거능은 감소하였다.

Table 7은 꾸지뽕 잎을 각각의 용매로써 추출하고 추출물의 첨가농도를 100 μ g/mL에서 5,000 μ g/mL까지 증가시킬 때 추출물의 환원력의 변화를 나타낸 것이다. 물 추출물의 환원력은 0.842 O.D.에서부터 증가하여 첨가농도 5,000 μ g/mL에서 2.064 O.D.으로 가장 높았고 에탄올 추출물은 0.809 O.D.로부터 증가하여 1.865 O.D.으로 그 다음이었다. Chloroform 추출물의 경우 0.570 O.D.로부터 증가하여 1.542 O.D. 이었으며 n-hexane 추출물은 0.446 O.D.에서 1.246 O.D.으로 증가하였다.

이상의 결과는 꾸지뽕 잎의 물 추출물이 많은 양의 폴리페놀 화합물을 함유하며, positive reference인 BHA(butylated hydroxyanisole)나 L-Ascorbic acid보다 높은 항산화 활성을 지님을 보여주고 있다. 그러나 꾸지뽕 열매의 물 추출물보다는 낮은 활성을 보였다.

Table 6. Nitrite scavenging ability of various extracts from *Cudrania tricuspidata* leaf at various pH (%)¹

pH	Extract ²	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)					
		100	300	500	1,000	3,000	5,000
1.2	BHA ³	44.6±1.3 ^{aD}	55.9±1.6 ^{aC}	67.2±2.0 ^{aB}	72.3±2.1 ^{aB}	88.4±2.5 ^{aA}	92.9±2.7 ^{aA}
	WE	44.2±1.3 ^{aD}	54.3±1.6 ^{aC}	67.6±2.0 ^{aB}	72.0±2.1 ^{aB}	88.5±2.5 ^{aA}	91.8±2.7 ^{aA}
	EE	39.9±1.2 ^{bE}	49.0±1.4 ^{bD}	58.3±1.7 ^{bC}	66.4±2.0 ^{bB}	77.9±2.3 ^{bA}	82.3±2.4 ^{bA}
	CE	35.5±1.0 ^{cE}	43.2±1.3 ^{cD}	48.3±1.4 ^{cC}	53.9±1.6 ^{cB}	59.1±1.7 ^{cA}	61.5±1.8 ^{cA}
	HE	27.4±0.8 ^{dE}	33.4±1.0 ^{dD}	37.3±1.1 ^{dC}	41.6±1.2 ^{dB}	45.7±1.3 ^{dA}	47.5±1.4 ^{dA}
3.0	BHA	34.2±1.0 ^{aD}	37.8±1.1 ^{aD}	52.2±1.5 ^{aC}	64.9±1.8 ^{aB}	69.3±2.0 ^{aAB}	70.9±2.0 ^{aA}
	WE	34.5±1.0 ^{aD}	38.3±1.1 ^{aD}	51.2±1.5 ^{aC}	63.9±1.8 ^{aB}	68.0±2.0 ^{aAB}	69.9±2.0 ^{aA}
	EE	31.6±0.9 ^{bE}	34.3±1.0 ^{bDE}	36.3±1.0 ^{bCD}	38.2±1.1 ^{bBC}	41.1±1.2 ^{bAB}	42.5±1.2 ^{bA}
	CE	28.7±0.8 ^{cD}	30.1±0.9 ^{cCD}	31.2±0.9 ^{cBCD}	32.3±0.9 ^{cABC}	33.9±1.0 ^{cAB}	34.6±1.0 ^{cA}
	HE	22.1±0.6 ^{dD}	23.3±0.7 ^{dCD}	24.1±0.7 ^{dBCD}	25.0±0.8 ^{dABC}	26.2±0.8 ^{dAB}	26.7±0.8 ^{dA}
4.2	BHA	18.0±0.5 ^{aC}	19.3±0.6 ^{aC}	21.7±0.6 ^{aB}	23.4±0.7 ^{aAB}	25.1±0.8 ^{aA}	25.5±0.8 ^{aA}
	WE	18.8±0.5 ^{aE}	20.3±0.6 ^{aDE}	21.5±0.6 ^{aCD}	22.6±0.6 ^{aBC}	24.2±0.7 ^{aAB}	25.0±0.8 ^{aA}
	EE	12.6±0.3 ^{bE}	13.7±0.4 ^{bDE}	14.5±0.4 ^{bCD}	15.3±0.5 ^{bBC}	16.4±0.5 ^{bAB}	17.0±0.5 ^{bA}
	CE	11.5±0.3 ^{bD}	12.0±0.3 ^{cCD}	12.5±0.3 ^{cBCD}	12.9±0.3 ^{cABC}	13.6±0.4 ^{cAB}	13.8±0.4 ^{cA}
	HE	8.9±0.2 ^{cD}	9.3±0.3 ^{dCD}	9.7±0.3 ^{dBCD}	10.0±0.3 ^{dABC}	10.5±0.3 ^{dAB}	10.7±0.3 ^{dA}
6.0	BHA	7.7±0.2 ^{aD}	8.7±0.2 ^{aD}	11.1±0.3 ^{aC}	14.5±0.4 ^{aB}	16.1±0.5 ^{aA}	16.7±0.4 ^{aA}
	WE	7.6±0.2 ^{aD}	8.6±0.2 ^{aD}	10.1±0.3 ^{bC}	12.6±0.3 ^{bB}	14.0±0.4 ^{bA}	14.6±0.4 ^{bA}
	EE	6.8±0.2 ^{bD}	7.5±0.2 ^{bD}	8.6±0.2 ^{cC}	10.3±0.3 ^{cC}	11.3±0.3 ^{cB}	11.7±0.3 ^{cA}
	CE	6.0±0.2 ^{cD}	6.4±0.2 ^{cD}	7.0±0.2 ^{dC}	7.9±0.2 ^{dB}	8.5±0.2 ^{dA}	8.7±0.2 ^{dA}
	HE	4.6±0.1 ^{dD}	4.9±0.1 ^{dD}	5.4±0.2 ^{eC}	6.1±0.2 ^{eB}	6.6±0.2 ^{eA}	6.7±0.2 ^{eA}

¹Values are means±SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³BHA(butylated hydroxyanisole) was used as positive reference.

Table 7. Reducing power of various extracts from *Cudrania tricuspidata* leaf (Absorbance at 700 nm)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
L-Ascorbic acid ³	0.837 \pm 0.024 ^{aF}	1.196 \pm 0.035 ^{aE}	1.353 \pm 0.039 ^{aD}	1.573 \pm 0.046 ^{aC}	1.916 \pm 0.055 ^{aB}	2.076 \pm 0.060 ^{aA}
WE	0.842 \pm 0.024 ^{aE}	1.192 \pm 0.032 ^{aD}	1.340 \pm 0.039 ^{aC}	1.504 \pm 0.043 ^{aB}	1.954 \pm 0.057 ^{aA}	2.064 \pm 0.059 ^{aA}
EE	0.809 \pm 0.023 ^{aE}	1.031 \pm 0.030 ^{bD}	1.198 \pm 0.038 ^{bC}	1.383 \pm 0.040 ^{bB}	1.838 \pm 0.050 ^{bA}	1.865 \pm 0.054 ^{bA}
CE	0.570 \pm 0.017 ^{bE}	0.747 \pm 0.021 ^{cD}	0.939 \pm 0.027 ^{cC}	1.141 \pm 0.033 ^{cB}	1.498 \pm 0.043 ^{cA}	1.541 \pm 0.044 ^{cA}
HE	0.446 \pm 0.013 ^{cD}	0.587 \pm 0.017 ^{dC}	0.737 \pm 0.021 ^{dB}	0.892 \pm 0.023 ^{dAB}	1.222 \pm 0.035 ^{dA}	1.246 \pm 0.036 ^{dA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³L-Ascorbic acid was used as positive reference.

Table 8은 꾸지뽕 잎을 각각의 용매로써 추출하고 추출물의 첨가농도를 100에서부터 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 까지 증가시킬 때 추출물의 xanthine oxidase 억제능의 변화를 나타낸 것이다. 물 추출물의 경우 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 까지 첨가농도를 증가시킬 때 억제능은 47.5%에서 91.3%까지 증가하였고 에탄올 추출물의 경우 첨가농도 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 41.3 %를 나타내었다가 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 로 첨가농도를 증가함에 따라 72.9%로 증가하였다. Chloroform 추출물과 n-hexane 추출물도 각각 33.4%에서 52.5%로, 26.6%에서 40.6%로 증가하였다.

당뇨쥐에서 superoxide를 생성하는 효소인 xanthine oxidase가 혈장과 간에서 증가한다 (30). Xanthine oxidase는 간에서 혈장으로 나와 혈관의 내피세포에 부착한다.

대조 토끼와는 달리, 당뇨 토끼의 arterial ring은 xanthine이 있으면 superoxide를 생산한다. 위의 결과는 꾸지뽕 잎의 물 추출물이 당뇨병을 억제할 수 있는 가능성을 보여주고 있다. 그러나 꾸지뽕 열매의 물 추출물보다는 낮은 활성을 보였다.

Table 8. Inhibitory ability for xanthine oxidase of various extracts from *Cudrania tricuspidata* leaf (%)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
L-ascorbic acid ³	63.3 \pm 1.8 ^{aC}	86.0 \pm 2.5 ^{aB}	91.3 \pm 2.7 ^{aAB}	92.5 \pm 2.7 ^{aAB}	94.7 \pm 2.7 ^{aA}	95.3 \pm 2.7 ^{aA}
WE	47.5 \pm 1.4 ^{bE}	64.1 \pm 1.8 ^{bD}	78.0 \pm 2.3 ^{bC}	83.8 \pm 2.4 ^{bBC}	88.5 \pm 2.5 ^{aAB}	91.3 \pm 2.7 ^{aA}
EE	41.3 \pm 1.2 ^{cC}	56.4 \pm 1.6 ^{cB}	69.3 \pm 2.0 ^{cA}	70.3 \pm 2.0 ^{cA}	71.9 \pm 2.1 ^{bA}	72.9 \pm 2.1 ^{bA}
CE	34.4 \pm 1.0 ^{dC}	44.7 \pm 1.3 ^{dB}	50.0 \pm 1.4 ^{dA}	50.7 \pm 1.4 ^{dA}	51.8 \pm 1.5 ^{cA}	52.5 \pm 1.5 ^{cA}
HE	26.6 \pm 0.8 ^{eC}	34.5 \pm 1.0 ^{eB}	38.6 \pm 1.1 ^{eA}	39.2 \pm 1.2 ^{eA}	39.8 \pm 1.2 ^{dA}	40.6 \pm 1.2 ^{dA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³L-Ascorbic acid was used as positive reference.

Table 9는 꾸지뽕 잎을 각각의 용매로써 추출하고 추출물의 첨가농도를 100에서부터 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 까지 증가시킬 때 추출물의 tyrosinase oxidase 억제능의 변화를 나타낸 것이다. 물 추출물의 경우 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 까지 첨가농도를 증가시킬 때 억제능은 55.9%에서 92.2%까지 증가하였고 에탄올 추출물의 경우 첨가농도 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 44.1%를 나타내었다가 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 로 첨가농도를 증가함에 따라 79.9%로 증가하였다. Chloroform 추출물과 n-hexane 추출물도 각각 32.3%에서 67.7%로, 25.0%에서 52.3%로 증가하였다.

Tyrosinase는 monophenolic 화합물을 o-diphenols로 hydroxylation하고 o-diphenols를 o-quinones로 산화시킨다 (31). 따라서 이 효소는 tyrosine을 L-3,4-dihydroxyphenylalanine(L-DOPA)로 변화시키거나, L-DOPA를 DOPAquinone으로 산화시킨다 (32). 이 과정은 동물 피부색의 결정인자이고, 기미, 주근깨 및 흑점과 같은 부분적 과색소증에 관련된다. 위의 결과는 꾸지뽕 잎 물 추출물의 미백활성을 보여주는 것이다.

Table 9. Inhibitory ability for tyrosinase of various extracts from *Cudrania tricuspidata* leaf (%)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
L-ascorbic acid ³	56.1 \pm 1.6 ^{aE}	63.1 \pm 1.8 ^{aD}	76.0 \pm 2.2 ^{aC}	88.5 \pm 2.5 ^{aB}	93.5 \pm 2.7 ^{aAB}	96.4 \pm 2.1 ^{aA}
WE	55.9 \pm 1.6 ^{aC}	62.5 \pm 1.8 ^{aC}	75.7 \pm 2.2 ^{aB}	86.7 \pm 2.5 ^{aA}	91.2 \pm 2.7 ^{aA}	92.2 \pm 2.7 ^{aA}
EE	44.1 \pm 1.3 ^{bdD}	53.8 \pm 1.7 ^{bcC}	68.0 \pm 2.0 ^{bbB}	75.7 \pm 2.2 ^{baA}	78.2 \pm 2.3 ^{baA}	79.9 \pm 2.3 ^{baA}
CE	32.3 \pm 0.9 ^{cdD}	44.8 \pm 1.3 ^{ccC}	59.9 \pm 1.7 ^{cbB}	64.1 \pm 1.8 ^{caB}	66.7 \pm 1.9 ^{caA}	67.7 \pm 2.0 ^{caA}
HE	25.0 \pm 0.8 ^{ddD}	34.6 \pm 1.0 ^{dcC}	46.3 \pm 1.3 ^{dbB}	49.5 \pm 1.8 ^{daB}	51.5 \pm 1.5 ^{daA}	52.3 \pm 1.5 ^{daA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³L-Ascorbic acid was used as positive reference.

제4절 꾸지뽕 줄기의 항산화성

꾸지뽕 줄기를 각각의 용매로써 추출하였을 때의 추출수율을 Table 1에 나타내었다. 이 표에서 알 수 있듯이 에탄올 추출물의 수율이 21.8 g/100g 가장 높고 물 추출물의 수율이 17.5 g/100g로 그 다음으로 많았다.

Table 1. Extraction yield of *Cudrania tricuspidata* stem with various extracting solvents¹

Solvent	Yield (g/100 g-dry weight)
Water	17.5±0.5 ^b
Ethyl alcohol	21.8±0.6 ^a
Chloroform	5.2±0.2 ^c
n-hexane	3.4±0.1 ^d

¹Values are means±SE of triplicate determinations. Values with different superscripts within a column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 2는 꾸지뽕 줄기를 각각의 용매로써 추출하였을 때의 폴리페놀화합물의 총량을 나타낸 것이다. 물 추출물에서 172.0 µg/mg으로 가장 높았고 에탄올 추출물에서는 151.2 µg/mg으로 그 다음이었다.

꾸지뽕 줄기를 각각의 용매로써 추출하였을 때의 각 용매에 추출된 물질의 DPPH radical 소거능을 첨가 농도를 달리하여 측정한 결과를 Table 3에 나타내었다. 물 추출물의 경우 첨가농도 5,000µg/mL로 증가함에 따라 80.2%에서 95.0%로 소거능이 증가하였고 에탄올 추출물의 경우, 첨가농도 100µg/mL 에서 소거능이 69.7% 이었던 것이 첨가농도 5,000µg/mL에서는 91.6%로 소거능이 증가하였다. 첨가농도 1,000µg/mL에서는 물 추출물, 에탄올 추출물, chloroform 추출물 및 hexane 추출물 순으로

DPPH radical 소거능이 크게 나타났다.

꾸지뽕 줄기를 각각의 용매로써 추출하였을 때의 각 용매에 추출된 물질의 hydroxyl radical 소거능을 첨가 농도를 달리하여 측정한 결과를 Table 4에 나타내었다. 물 추출물의 경우 첨가농도 5,000 μ g/mL까지 90.7%로 소거능이 계속 증가하였고 에탄올 추출물의 경우도, 첨가농도 5,000 μ g/mL에서 소거능이 85.7%로 증가하여 물 추출물과 비슷하였다. 모든 첨가농도에서 물 추출물, 에탄올 추출물, chloroform 추출물 및 hexane 추출물 순으로 hydroxyl radical 소거능이 크게 나타났다.

Table 2. Contents of total polyphenolic compounds of various extracts from *Cudrania tricuspidata* stem¹

Extract ²	Total polyphenolic compounds (μ g/mg, dry weight) ³
WE	172.0 \pm 5.0 ^a
EE	151.2 \pm 4.4 ^b
CE	98.0 \pm 2.8 ^c
HE	51.8 \pm 1.5 ^d

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different superscripts within a column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

²WE: water extract, EE: ethanol extract, CE: chloroform extracts, HE: n-hexane extract.

³Content was expressed as tannic acid.

Table 3. Electron donating ability of various extracts from *Cudrania tricuspidata* stem (%)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
BHA ³	81.5 \pm 2.4 ^{aB}	89.2 \pm 2.6 ^{aAB}	91.3 \pm 2.7 ^{aA}	94.5 \pm 2.7 ^{aA}	95.2 \pm 2.8 ^{aA}	95.1 \pm 2.8 ^{aA}
WE	80.2 \pm 2.3 ^{aC}	83.4 \pm 2.4 ^{aBC}	90.5 \pm 2.6 ^{aAB}	91.5 \pm 2.7 ^{aAB}	94.7 \pm 2.7 ^{aA}	95.2 \pm 2.8 ^{aA}
EE	69.7 \pm 2.0 ^{bD}	74.3 \pm 2.1 ^{bCD}	79.0 \pm 2.3 ^{bBC}	81.7 \pm 2.4 ^{bBC}	85.5 \pm 2.5 ^{bAB}	91.6 \pm 2.7 ^{ab} _A
CE	62.8 \pm 1.8 ^{cC}	65.5 \pm 1.9 ^{cC}	73.3 \pm 2.1 ^{bB}	79.9 \pm 2.3 ^{bAB}	82.1 \pm 2.4 ^{bA}	85.8 \pm 2.4 ^{bA}
HE	46.7 \pm 1.3 ^{dC}	53.3 \pm 1.6 ^{dB}	57.3 \pm 1.7 ^{cB}	63.4 \pm 1.8 ^{cA}	64.5 \pm 1.8 ^{cA}	66.4 \pm 1.9 ^{cA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³BHA(butylated hydroxyanisole) was used as positive reference.

Table 4. Hydroxy radical scavenging ability of various extracts from *Cudrania tricuspidata* stem (%)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
BHA ³	82.8 \pm 2.4 ^{aB}	89.9 \pm 2.6 ^{aAB}	91.9 \pm 2.7 ^{aA}	93.7 \pm 2.7 ^{aA}	95.1 \pm 2.8 ^{aA}	95.1 \pm 2.8 ^{aA}
WE	77.3 \pm 2.3 ^{aC}	80.8 \pm 2.3 ^{bBC}	83.6 \pm 2.4 ^{bABC}	85.1 \pm 2.5 ^{bABC}	88.1 \pm 2.5 ^{abAB}	90.7 \pm 2.6 ^{abA}
EE	70.0 \pm 2.0 ^{bB}	78.8 \pm 2.3 ^{bA}	80.3 \pm 2.3 ^{bA}	81.4 \pm 2.4 ^{bA}	83.1 \pm 2.4 ^{bcA}	85.7 \pm 2.5 ^{bcA}
CE	52.0 \pm 1.5 ^{cD}	54.1 \pm 1.6 ^{cD}	60.6 \pm 1.7 ^{cC}	66.9 \pm 1.9 ^{cB}	77.9 \pm 2.3 ^{cA}	78.3 \pm 2.3 ^{cA}
HE	42.2 \pm 1.2 ^{dD}	49.4 \pm 1.4 ^{cC}	54.9 \pm 1.6 ^{cB}	59.3 \pm 1.7 ^{dB}	65.6 \pm 1.9 ^{dA}	65.7 \pm 1.9 ^{dA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³BHA(butylated hydroxyanisole) was used as positive reference.

꾸지뽕 줄기를 각각의 용매로써 추출하였을 때의 각 용매에 추출된 물질의 SOD 활성을 첨가 농도를 달리하여 측정한 결과를 Table 5에 나타내었다. 물 추출물의 경우 첨가농도 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 78.0%의 소거능이 있었으며 에탄올 추출물의 경우 65.8%, chloroform 추출물 및 hexane 추출물은 각각 52.0 및 42.8%로 나타났다.

Table 5. Pseudo-superoxide dismutase (SOD) activity of various extracts from *Cudrania tricuspidata* stem (%)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
BHA ³	60.1 \pm 1.7 ^{3)a4)D5}	74.3 \pm 2.1 ^{aC}	83.8 \pm 2.4 ^{aB}	88.6 \pm 2.5 ^{aAB}	93.3 \pm 2.7 ^{aA}	95.1 \pm 2.8 ^{aA}
WE	54.4 \pm 1.6 ^{bC}	56.3 \pm 1.6 ^{bC}	64.8 \pm 1.8 ^{bB}	73.8 \pm 2.1 ^{bA}	77.5 \pm 2.3 ^{bA}	78.0 \pm 2.3 ^{bA}
EE	53.2 \pm 1.6 ^{bC}	55.8 \pm 1.6 ^{bB}	57.1 \pm 1.7 ^{cBC}	61.3 \pm 1.8 ^{cAB}	64.0 \pm 1.8 ^{cA}	65.8 \pm 1.9 ^{cA}
CE	44.9 \pm 1.3 ^{cD}	45.9 \pm 1.3 ^{cC}	47.3 \pm 1.4 ^{dBCD}	49.8 \pm 1.4 ^{dABC}	51.4 \pm 1.5 ^{dAB}	52.0 \pm 1.5 ^{dA}
HE	32.1 \pm 0.9 ^{dC}	33.3 \pm 1.0 ^{dC}	34.4 \pm 1.0 ^{eBC}	37.0 \pm 1.1 ^{eB}	41.8 \pm 1.2 ^{eA}	42.8 \pm 1.2 ^{eA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³BHA(butylated hydroxyanisole) was used as positive reference.

꾸지뽕 잎을 각각의 용매로써 추출하였을 때의 각 용매에 추출된 물질의 nitrite radical 소거능을 측정 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 조정하고 첨가 농도를 달리하여 측정한 결과를 Table 6에 나타내었다. pH 1.2에서 측정한 경우, 물 추출물의 첨가농도가 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 증가함에 따라 84.3%까지 소거능이 증가하였으며 에탄올 추출물은 74.1% 까지 증가하였고 chloroform 추출물 및 hexane 추출물은 각각 50.4

및 38.9%까지 증가하였다. 또한 pH 3.0에서 측정한 결과, 첨가농도를 100에서부터 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 증가시킬 때 물 첨가물의 소거능은 29.5%에서 57.0%로 증가하였으며 에탄올 추출물은 28.9%에서 35.4%로, chloroform 추출물은 27.3%에서 31.2%로, n-hexane 추출물은 21.1%에서 24.1%로 각각 증가하였다. pH 4.2에서 측정한 결과 첨가농도를 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서부터 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 증가시킬 때 물 첨가물의 소거능은 13.8%에서 19.8%로 증가하였으며 에탄올 추출물은 11.6%에서 14.2%로, chloroform 추출물은 10.9%에서 12.5%로, n-hexane 추출물은 8.4%에서 9.7%로 각각 증가하였다. 그리고 pH 6.0에서 측정한 결과, 첨가농도를 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 증가시킬 때 물 첨가물의 소거능은 6.7%에서 10.6%로 증가하였으며 에탄올 추출물은 6.1%에서 9.0%로, chloroform 추출물은 5.6%에서 7.4%로, n-hexane 추출물은 4.3%에서 5.7%로 각각 증가하였다.

동일한 추출물을 같은 농도로 첨가하였을 경우 측정 pH가 높아질수록 nitrite radical 소거능은 감소하였다.

Table 7은 꾸지뽕 줄기를 각각의 용매로써 추출하고 추출물의 첨가농도를 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 증가시킬 때 추출물의 환원력의 변화를 나타낸 것이다. 물 추출물의 환원력은 0.712 O.D.에서부터 증가하여 첨가농도 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 1.899 O.D.으로 가장 높았고 에탄올 추출물은 0.684 O.D.로부터 증가하여 1.795 O.D.으로 그 다음이었다. Chloroform 추출물의 경우 0.510 O.D.로부터 증가하여 1.417 O.D.이었으며 n-hexane 추출물은 0.411 O.D.에서 1.173 O.D.로 증가하였다.

이상의 결과는 꾸지뽕 줄기의 물 추출물이 많은 양의 폴리페놀 화합물을 함유하며, positive reference인 BHA(butylated hydroxyanisole)나 L-Ascorbic acid보다 높은 항산화 활성을 지님을 보여주고 있다. 그러나 꾸지뽕 열매의 물 추출물보다는 낮은 활성을 보였다.

Table 6. Nitrite scavenging ability of various extracts from *Cudrania tricuspidata* stem at various pH (%)¹

pH	Extract ²	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)					
		100	300	500	1,000	3,000	5,000
1.2	BHA ³	44.6±1.3 ^{aD}	55.9±1.6 ^{aC}	67.2±2.0 ^{aB}	72.3±2.1 ^{aB}	88.4±2.5 ^{aA}	92.9±2.7 ^{aA}
	WE	41.8±1.2 ^{aE}	51.5±1.5 ^{aD}	62.8±1.8 ^{aC}	69.8±2.0 ^{abB}	81.2±2.4 ^{ba}	84.3±2.4 ^{ba}
	EE	35.9±1.0 ^{bE}	44.3±1.3 ^{bd}	54.8±1.6 ^{bc}	65.9±1.9 ^{bB}	71.5±2.1 ^{ca}	74.1±2.1 ^{ca}
	CE	33.5±1.0 ^{bE}	38.5±1.1 ^{cd}	41.9±1.2 ^{cCD}	45.4±1.3 ^{cBC}	48.8±1.4 ^{dAB}	50.4±1.4 ^{dA}
	HE	25.9±0.8 ^{cE}	29.7±0.9 ^{dD}	32.3±0.9 ^{dCD}	35.1±1.0 ^{dBC}	37.7±1.1 ^{eAB}	38.9±1.1 ^{eA}
3.0	BHA	34.2±1.0 ^{aD}	37.8±1.1 ^{aD}	52.2±1.5 ^{aC}	64.9±1.8 ^{aB}	69.3±2.0 ^{aAB}	70.9±2.0 ^{aA}
	WE	29.5±0.9 ^{bd}	31.4±1.0 ^{bd}	42.8±1.2 ^{bc}	49.1±1.4 ^{bb}	56.0±1.6 ^{ba}	57.0±1.7 ^{ba}
	EE	28.9±0.8 ^{bd}	30.5±0.9 ^{bcCD}	31.7±0.9 ^{bcCD}	32.9±0.9 ^{cABC}	34.6±1.0 ^{cAB}	35.4±1.0 ^{ca}
	CE	27.3±0.8 ^{bc}	28.3±0.8 ^{bc}	29.0±0.9 ^{cABC}	29.7±0.9 ^{cABC}	30.7±0.9 ^{cAB}	31.2±0.9 ^{ca}
	HE	21.1±0.6 ^{cB}	21.9±0.6 ^{dAB}	22.4±0.6 ^{dAB}	22.9±0.6 ^{dAB}	23.7±0.7 ^{da}	24.1±0.7 ^{da}
4.2	BHA	18.0±0.5 ^{aC}	19.3±0.6 ^{aC}	21.7±0.6 ^{aB}	23.4±0.7 ^{aAB}	25.1±0.8 ^{aA}	25.5±0.8 ^{aA}
	WE	13.8±0.5 ^{bc}	17.6±0.5 ^{bb}	18.1±0.5 ^{baB}	18.6±0.5 ^{baB}	19.4±0.6 ^{ba}	19.8±0.6 ^{ba}
	EE	11.6±0.3 ^{cd}	12.2±0.3 ^{cd}	12.7±0.3 ^{bcD}	13.2±0.4 ^{cABC}	13.8±0.4 ^{cAB}	14.2±0.4 ^{ca}
	CE	10.9±0.3 ^{cC}	11.3±0.3 ^{bc}	11.6±0.3 ^{cABC}	11.9±0.3 ^{cABC}	12.2±0.4 ^{cAB}	12.5±0.3 ^{da}
	HE	8.4±0.2 ^{dC}	8.7±0.2 ^{dBC}	9.0±0.3 ^{dABC}	9.2±0.3 ^{dABC}	9.5±0.3 ^{dAB}	9.7±0.3 ^{ea}
6.0	BHA	7.7±0.2 ^{aD}	8.7±0.2 ^{aD}	11.1±0.3 ^{aC}	14.5±0.4 ^{aB}	16.1±0.5 ^{aA}	16.7±0.5 ^{aA}
	WE	6.7±0.2 ^{bE}	7.6±0.3 ^{bd}	8.5±0.2 ^{bc}	9.6±0.3 ^{bb}	10.3±0.3 ^{baB}	10.6±0.3 ^{ba}
	EE	6.1±0.2 ^{cd}	6.5±0.2 ^{cd}	7.1±0.2 ^{cC}	8.2±0.2 ^{cB}	8.7±0.2 ^{cAB}	9.0±0.3 ^{ca}
	CE	5.6±0.2 ^{cC}	5.9±0.2 ^{bc}	6.3±0.2 ^{db}	6.9±0.2 ^{da}	7.2±0.2 ^{Ad}	7.4±0.2 ^{da}
	HE	4.3±0.1 ^{dD}	4.6±0.1 ^{dCD}	4.9±0.1 ^{eBC}	5.3±0.2 ^{eAB}	5.6±0.2 ^{eA}	5.7±0.2 ^{ea}

¹Values are means±SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³BHA(butylated hydroxyanisole) was used as positive reference.

Table 7. Reducing power of various extracts from *Cudrania tricuspidata* stem (Absorbance at 700 nm)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
L-Ascorbic acid ³	0.837 \pm 0.024 ^{aF}	1.196 \pm 0.035 ^{aE}	1.353 \pm 0.046 ^{aD}	1.573 \pm 0.046 ^{aC}	1.916 \pm 0.055 ^{aB}	2.076 \pm 0.060 ^{aA}
WE	0.712 \pm 0.021 ^{bF}	0.933 \pm 0.027 ^{bE}	1.147 \pm 0.033 ^{bD}	1.374 \pm 0.040 ^{bC}	1.746 \pm 0.050 ^{bB}	1.899 \pm 0.055 ^{bA}
EE	0.684 \pm 0.019 ^{bF}	0.877 \pm 0.025 ^{bE}	1.076 \pm 0.031 ^{bD}	1.286 \pm 0.037 ^{bC}	1.649 \pm 0.047 ^{bB}	1.795 \pm 0.052 ^{bA}
CE	0.510 \pm 0.015 ^{cD}	0.726 \pm 0.021 ^{cC}	0.886 \pm 0.025 ^{cB}	0.952 \pm 0.028 ^{cB}	1.389 \pm 0.040 ^{cA}	1.417 \pm 0.041 ^{cA}
HE	0.411 \pm 0.012 ^{dD}	0.572 \pm 0.017 ^{dC}	0.704 \pm 0.020 ^{dB}	0.739 \pm 0.021 ^{dB}	1.158 \pm 0.033 ^{dA}	1.173 \pm 0.034 ^{dA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³L-Ascorbic acid was used as positive reference.

Table 8은 꾸지뽕 줄기를 각각의 용매로써 추출하고 추출물의 첨가농도를 100에서부터 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 까지 증가시킬 때 추출물의 xanthine oxidase 억제능의 변화를 나타낸 것이다. 물 추출물의 경우 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 까지 첨가농도를 증가시킬 때 억제능은 43.0%에서 75.5%까지 증가하였고 에탄올 추출물의 경우 첨가농도 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 35.7%를 나타내었다가 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 로 첨가농도를 증가함에 따라 60.2%로 증가하였다. Chloroform 추출물과 n-hexane 추출물도 각각 29.4%에서 41.2%로, 22.7%에서 31.8%로 증가하였다.

당뇨쥐에서 superoxide를 생성하는 효소인 xanthine oxidase가 혈장과 간에서 증가한다 (30). Xanthine oxidase는 간에서 혈장으로 나와 혈관의 내피세포에 부착한다.

대조 토끼와는 달리, 당뇨 토끼의 arterial ring은 xanthine이 있으면 superoxide를 생산한다. 위의 결과는 꾸지뽕 줄기의 물 추출물이 당뇨병을 억제할 수 있는 가능성을 보여주고 있다. 그러나 꾸지뽕 열매의 물 추출물보다는 낮은 활성을 보였다.

Table 8. Inhibitory ability for xanthine oxidase of various extracts from *Cudrania tricuspidata* stem (%)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
L-ascorbic acid ³	63.3 \pm 1.8 ^{aC}	86.0 \pm 2.5 ^{aB}	91.3 \pm 2.7 ^{aAB}	92.5 \pm 2.7 ^{aAB}	94.7 \pm 2.7 ^{aA}	95.3 \pm 2.7 ^{aA}
WE	43.0 \pm 1.3 ^{bd}	60.8 \pm 2.0 ^{bc}	67.4 \pm 2.0 ^{bb}	73.3 \pm 2.1 ^{bAB}	74.6 \pm 2.1 ^{ba}	75.5 \pm 2.2 ^{ba}
EE	35.7 \pm 1.0 ^{cC}	51.8 \pm 1.5 ^{cB}	57.6 \pm 1.7 ^{cA}	58.4 \pm 1.7 ^{cA}	59.5 \pm 1.7 ^{cA}	60.2 \pm 1.7 ^{cA}
CE	29.4 \pm 0.9 ^{dC}	36.1 \pm 1.0 ^{dB}	39.6 \pm 1.2 ^{dA}	40.2 \pm 1.2 ^{dA}	40.7 \pm 1.2 ^{dA}	41.2 \pm 1.2 ^{dA}
HE	22.7 \pm 0.6 ^{eC}	27.9 \pm 0.8 ^{eB}	30.6 \pm 0.9 ^{eA}	31.1 \pm 0.9 ^{eA}	31.4 \pm 0.9 ^{eA}	31.8 \pm 0.9 ^{eA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³L-Ascorbic acid was used as positive reference.

Table 9은 꾸지뽕 줄기를 각각의 용매로써 추출하고 추출물의 첨가농도를 100에서부터 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 증가시킬 때 추출물의 tyrosinase oxidase 억제능의 변화를 나타낸 것이다. 물 추출물의 경우 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 첨가농도를 증가시킬 때 억제능은 52.8%에서 81.8%까지 증가하였고 에탄올 추출물의 경우 첨가농도 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 42.5 %를 나타내었다가 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 첨가농도를 증가함에 따라 73.8%로 증가하였다. Chloroform 추출물과 n-hexane 추출물도 각각 31.5%에서 62.1%로, 24.3%에서

48.0%로 증가하였다.

Tyrosinase는 monophenolic 화합물을 o-diphenols로 hydroxylation하고 o-diphenols를 o-quinones로 산화시킨다 (31). 따라서 이 효소는 tyrosine을 L-3,4-dihydroxyphenylalanine(L-DOPA)로 변화시키거나, L-DOPA를 DOPAquinone으로 산화시킨다 (32). 이 과정은 동물 피부색의 결정인자이고, 기미, 주근깨 및 흑점과 같은 부분적 과색소증에 관련된다. 위의 결과는 꾸지뽕 잎보다는 약하지만 꾸지뽕 줄기 물 추출물의 미백활성을 보여주는 것이다.

이상의 결과에서 꾸지뽕 열매의 생리활성이 가장 크고, 잎, 줄기 순으로 작아졌다.

Table 9. Inhibitory ability for tyrosinase of various extracts from *Cudrania tricuspidata* stem (%)¹

Extract ²	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)					
	100	300	500	1,000	3,000	5,000
L-ascorbic acid ³	56.1 \pm 1.6 ^{aE}	63.1 \pm 1.8 ^{aD}	76.0 \pm 2.2 ^{aC}	88.5 \pm 2.5 ^{aB}	93.5 \pm 2.7 ^{aAB}	96.4 \pm 2.1 ^{aA}
WE	52.8 \pm 1.5 ^{aC}	59.0 \pm 1.7 ^{ab} _c	65.3 \pm 1.8 ^{bB}	77.6 \pm 2.3 ^{bA}	80.5 \pm 2.3 ^{bA}	81.8 \pm 2.4 ^{bA}
EE	42.5 \pm 1.2 ^{bd}	55.2 \pm 1.6 ^{bC}	62.7 \pm 1.9 ^{bB}	70.3 \pm 1.4 ^{ca}	72.2 \pm 2.1 ^{ca}	73.8 \pm 2.1 ^{ca}
CE	31.5 \pm 0.9 ^{cd}	43.1 \pm 1.3 ^{cC}	56.5 \pm 1.6 ^{cB}	59.2 \pm 1.7 ^{dAB}	61.4 \pm 1.8 ^{dAB}	62.1 \pm 1.8 ^{dA}
HE	24.3 \pm 0.7 ^{cd}	33.3 \pm 1.0 ^{dC}	43.6 \pm 1.3 ^{dB}	45.7 \pm 1.3 ^{eAB}	47.4 \pm 1.4 ^{eAB}	48.0 \pm 1.4 ^{eA}

¹Values are means \pm SE of triplicate determinations. Values with different small superscripts within a column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test. Values with different capital superscripts within a row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

²The abbreviations of introductory remarks are the same as in Table 2.

³L-Ascorbic acid was used as positive reference.

제5절 꾸지뽕잎의 혈당 및 체중 조절 기능

경제가 발전함에 따라 에너지 함량이 높은 가공식품을 많이 섭취하고 운동량이 적어지면서 비만증이 국민건강을 위협하는 요인이 되고 있다. 비만인은 거북하고 아름답지 않은 외모로 보는 이에게 좋지 않은 인상을 주고 활동이 불편할 뿐 아니라 정상인에 비하여 당뇨병, 심혈관질환, 고지혈증 등의 발생률과 수술의 위험성이 높아 대체로 단명하다고 보고되고 있다 [Pi-Sunyer, F. X. (1994). in: Modern Nutrition in health and Disease, Shils, M. E., Olson, J. A. and Shike, M. (Eds), pp. 984-1006. Lea & Febiger, Philadelphia, Vol. 2.]. 따라서 비만증은 중년을 넘어선 사람에게는 생명에 관한 문제이며, 특히 젊은 여성에게는 심각한 미용상의 문제가 되고 있다.

미국의 경우 당뇨병 환자는 1,300만명에 달하고 있다. 또한 당뇨병은 50%의 하류층 성인 수술, 25%의 신장 질환의 원인이 되고 있으며 성인 실명의 가장 큰 요인이 되고 있다. 당뇨병과 그의 합병증은 제 3위의 사망요인으로 알려져 있다.

우리나라에서도 당뇨병의 발생빈도가 점차 증가되어 인구의 5.1%가 당뇨병, 4.1%가 당뇨병 의증(疑症)을 지니고 있어서 전국적으로 약 150만명의 당뇨병 환자가 있는 것으로 추정된다. 최근 당뇨병이 많아지는 이유는 경제적인 여유와 생활수준의 향상, 식생활의 변화, 평균 수명의 증가, 운동량 부족을 초래하는 생활습관, 현대인의 각종 스트레스 등으로 알려져 있다. 우리나라의 경우 당뇨병 환자의 95% 이상이 만성 대사성 질환인 인슐린 비의존형 당뇨병을 가지고 있으며, 이 질환의 합병증인 당뇨병성 신경병증, 망막병증, 신장병, 백내장 등이 삶의 질을 떨어뜨리고 수명을 단축시키기 때문에 사회적으로 큰 문제가 되고 있다.

최근에 비만증, 당뇨병 등과 같은 성인병의 예방 및 치료법으로서 적절한 운동과 더불어 오랜 세월 동안 안전성과 효능이 검증된 여러 식품소재의 이용에 대한 관심이 높아지고 있다. 현재 비만인을 위한 건강식품으로 식이섬유, 생약재 및 여러 식품소재를 함유하는 제품들이 개발되어 있으나, 그 값이 매우 비싸며 식사량을 줄이고 이 제품들을 섭취할 경우 여러 영양소의 부족으로 인한 부작용으로 정상적인 생활이 어렵다고 알려져 있다. 또한 당뇨병의 치료 및 예방에는 각종 의약품, 천연식품 등이 많이 사용되고 있다. 이중 의약품으로는 경구용 혈당 강하제, 인슐린제, 합병증 치료제 등이 사용되고 있는데, 저혈당증, 알레르기, 고지혈증, 다뇨증 등의 부작용이 많이 나타난다.

꾸지뽕은 한국, 중국 및 일본에서 향암, 항염증, 위염 및 간손상에 중요한 전통 생약 중의 하나이다 [Bioorg. Med. Chem. Lett. Aug. 17 (2006), Epub. ahead of print]. 꾸지뽕에는 β -sitosterol, β -sitosterol glucoside, artocapelin, norartocapelin, 5-O-methylgenistein, phytoalexins 등이 함유되어 있다. 또한 지질 과산화 억제하고 [Am J Clin Med. 31(6), 907 (2003)] 자유기를 제거한다고 보고되고 있다 [Phytomedicine. 10(6-7), 544 (2003)].

Metabolic syndrome에서 atherosclerosis, 비만, insulin 내성, 고혈당 등이 복합적으로 발생한다. 또한 만성적 염증과 생체 산화가 metabolic syndrom을 일으키는 요인의 하나라고 알려져 있다 [Circul. 107, 391 (2003)].

꾸지뽕잎은 통상의 방법으로 열수추출하고 60°C로 감압농축하였다. 수율은 10 %였다.

실험 1: 혈당강하 작용 실험

(1) 실험방법

체중이 160 ~ 200 g인 스프래그-다울리(Sprague-Dawley)계 웅성 흰쥐에게 스트렙토조토신(Streptozotocin, 시그마사제) 40 mg/kg를 정맥내로 투여하여 당뇨병을 유발시켰다. 스트렙토조토신을 투여한 지 3일 후에 혈당 농도를 측정하여 혈당이 200 mg/dl 이상인 개체를 선정하여 1군당 7마리씩 배치하였다. 시판 펠렛(pellet) 사료를 급여하였으며, 본 발명의 실시예에서 수득된 시료에 증류수를 넣고 혼합하여 하루 2회 경구투여하였고 대조군은 같은 부피의 생리식염수를 투여하였다. 시료의 1일 투여량은 사람에게 대한 1일 권장 섭취량과 사람과 쥐의 평균 대사체중(체중^{3/4})의 비율로부터 계산되었는데 [Nutr. Res. 11, 1465 (1991)], 사람에게 대한 꾸지뽕잎 추출물의 1일 권장 섭취량은 2.0 g [김창민 등, 완역 중약대사전, 도서출판 정담 (1998)], 그리고 사람의 평균 체중은 65 kg으로 하였다. 쥐의 체중은 매주 측정되었다.

1, 2, 4, 8 주 경과 후 꼬리 정맥에서 채혈하여 혈당을 측정하였다. 채혈 전 16시간 절식시킨 후 오후 2시에 채혈하였다.

혈청의 포도당 함량은 드라이 케미스트리 시스템(dry chemistry system, 일본 Daiichi사 제품)을 이용하여 분석하였다.

(2) 실험결과

실험결과를 표 1에 나타내었다. 시료의 경구투여 8주 후, 대조군의 혈당 농도가 72.3 % 증가한 반면, 꾸지뽕잎 추출물 투여군의 혈당은 26.6 %

감소하였다.

표 1. 혈당조절 효과 실험결과¹

사료	혈당 농도 (mg/dl)					혈당강하율(%)
	개시일	1주후	2주후	4주후	8주후	
대조군	346±13	475±18	568±16	593±21	596±20	-72.3
꾸지뽕잎 추출물	338±15	367±16*	331±18*	290±19*	248±15*	26.6

¹평균치±SE, 1군당 7마리.

* $P < 0.05$.

실험 2: 비만증 억제효과 실험

(1) 동물실험

① 실험법

본 실험에 사용된 동물은 스프래그-다울리(Sprague-Dawley)계 웅성 흰쥐였다. 4주령의 쥐를 구입하여 1주간 시판 펠릿(pellet) 사료를 급여한 뒤 10 마리씩 군을 나누었다. 정상 대조군은 계속 펠릿 사료만 주고 나머지 모든 군은 펠릿 사료와 함께 사람에게 가장 흔히 발생하는 비만유형과 가장 가까운 비만을 유발한다고 알려진 카페테리아 다이어트 (cafeteria diet)를 급여하였으며 [J. Nutr. Biochem. 6, 151 (1995)], 모든 사료와 물을 자유섭

취시켰다. 카페테리아 다이어트를 2주간 급여한 후, 본 발명의 실시예에서 수득된 시료에 같은 부피가 되도록 증류수를 넣고 혼합하여 하루 2회 경구투여하였으며, 대조군은 같은 부피의 생리식염수를 경구투여하였다. 6주간 카페테리아 다이어트를 급여하면서 시료를 경구투여하였다. 시료의 1일 투여량은 사람에게 대한 1일 권장 섭취량과 사람과 쥐의 평균 대사체중(체중^{3/4})의 비율로부터 계산하였는데 [Nutr. Res. 11, 1465 (1991)], 사람에게 대한 꾸지뽕잎 추출물의 1일 권장 섭취량은 2.0 g [김창민 등, 완역 중약대사전, 도서출판 정담 (1998)], 그리고 사람의 평균 체중은 65 kg으로 하였다. 쥐의 체중은 매주 측정되었다. 카페테리아 다이어트로 쿠키, 비스킷, 초콜렛, 땅콩, 치즈, 감자칩, 아몬드, 소세지, 설탕함유 음료 및 햄을 급여하였다.

시료를 6주간 경구투여한 후 심장에서 혈액을 채취하고 간, 신장 지방조직 (perirenal fat pad) 및 정소상체 지방조직 (epididymal fat pad)을 잘라내어 무게를 측정하였다.

② 화학분석

간의 중성지질을 분석하기 위하여 간의 지질을 추출한 뒤 효소법으로 중성지질을 정량하였다. 혈청의 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 및 포도당 함량은 드라이 케미스트리 시스템(dry chemistry system, 일본 Daiichi사 제품)을 이용하여 분석하였다.

③ 실험결과

꾸지뽕잎 추출물 투여가 카페테리아 다이어트에 의하여 흰쥐에게 유발된 비만에 미치는 효과가 표 3에 나타나 있다.

비만 대조군은 정상 대조군에 비하여 열량섭취가 25 % 증가하였고, 체중증가 또한 19 % 증가하였다. 또한 복부지방은 47 % 증가하였고 간의 중성지방과 혈당농도 역시 각각 28 %, 16 % 증가하였다. 그리고 동맥경화 위험지수도 57 % 증가하였다. 이러한 결과는 cafeteria diet가 흰쥐의 비만을 유발하였으며, 비만증이 지방간, 동맥경화 및 당뇨병과 연관되어 있음을 나타내고 있다 [동아출판사 편집국, 현대가정의학백과 (1988)].

표 3. 비만증 억제효과 실험 결과¹

시료	체중증가 (g)	열량섭취 (kJ/일) ²	복부지방 (g)	간 중성지방 (mg/g)	동맥경화 위험지수 ³	혈당농도 (mg/dl)
정상 대조군	235±7 ^a	332±9 ^a	8.94±0.24 ^a	72.2±2.2 ^a	2.3±0.3 ^a	145±3 ^a
비만 대조군	279±6 ^c	415±18 ^c	13.18±0.30 ^c	92.6±4.7 ^c	3.6±0.3 ^c	168±6 ^c
꾸지뽕잎 추출물	249±5 ^b	366±12 ^b	10.01±0.23 ^b	82.1±2.2 ^b	3.0±0.2 ^b	158±3 ^b

¹평균치±SE, 1군당 10마리. 같은 칼럼에서 서로 다른 위첨자를 갖는 값들은 유의차가 있음 ($P<0.05$).

²도살전 5일간 측정.

³(총 콜레스테롤 - HDL-콜레스테롤)/HDL-콜레스테롤.

비만 대조군에 비하여 꾸지뽕잎 추출물군에서 체중증가 11%, 열량섭취 12%, 복부지방 24%, 간 중성지방 11%, 동맥경화 위험지수 17 % 및 혈당농도 6%가 감소하였다. 심장질환, 뇌졸중, 당뇨병, 유방암 등의 성인병이 복부 비만인에게 많이 나타난다고 알려져 있어서 꾸지뽕잎 추출물의 복부지방 감소효과는 비만 및 이와 관련된 성인병의 예방에 중요한 기능이라 할 수 있다.

이상의 결과는 꾸지뽕잎 추출물이 매우 탁월하게 체중을 조절하며, 비만증 및 이와 관련된 질환인 지방간, 동맥경화, 그리고 당뇨병을 효과적으로 억제할 수 있음을 보여주고 있다.

(2) 인체실험

생체 전위 임피던스를 측정하여 체지방 함량이 30 % 이상인 성인 여성 30인을 선발하여 꾸지뽕잎 추출물 시료 2.0 g을 식사 30분전 하루 3회, 40일간 섭취시킨 후 체형, 임상 및 생화학적 측정을 하여 섭취 전과 비교한 결과를 표 5에 나타내었다.

40일간의 섭취 결과 체중이 평균 4.2 kg 감소하고 체지방이 7.7 % 감소하였다. 또한 허리 둘레, 상박 둘레, 엉덩이 둘레 및 혈청 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 농도가 섭취 전에 비하여 통계적으로 유의하게 감소하였다. 특히 흰쥐 실험에서와 같이 혈당 농도도 유의하게 감소하였다.

표 5. 실시예에서 제조된 시료의 섭취에 의한 체형, 임상 및 생화학적 측정치의 변화¹

	다이어트 전	다이어트 후
체중 (kg)	66.2±2.1	62.0±2.2**
체지방 (%)	35.3±0.5	27.6±0.7**
허리 둘레 (inch)	33.5±1.0	30.9±0.9**
상박 둘레 (inch)	11.8±0.4	10.1±0.3**
엉덩이 둘레 (inch)	40.2±0.7	37.8±0.9**
수축기 혈압 (mmHg)	113±6	111±5
확장기 혈압 (mmHg)	75±4	76±3
공복시 혈당 (mg/dl)	91±7	76±3*
혈액 트리글리세리드 (mg/dl)	142±19	143±18
혈액 총 콜레스테롤 (mg/dl)	179±12	166±10*
HDL-콜레스테롤 (mg/dl)	40±4	45±5
LDL-콜레스테롤 (mg/dl)	148±19	96±7*

¹평균치±S.E.

* p < 0.05, ** p < 0.01

제6절 꾸지뽕잎의 노화억제 관련 특허 (출원번호
10-2007-0134556)

【요약서】

【요약】

본 발명은 노화억제용 배합물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 하수오와 꾸지뽕잎을 포함하는 노화억제용 배합물에 관한 것이다.

본 발명은 노화억제용 배합물에 있어서, 하수오와 꾸지뽕잎을 포함하는 노화억제용 배합물을 제공하고자 한다.

본 발명의 노화억제용 배합물은 상기의 하수오와 꾸지뽕잎 성분 이외에 첨가제를 추가로 더 포함하는 노화억제용 배합물을 제공하고자 한다.

【색인어】

노화억제, 하수오, 꾸지뽕잎

【명세서】

【발명의 명칭】

노화억제용 배합물 {Formula for anti-aging}

【발명의 상세한 설명】

【기술분야】

본 발명은 노화억제용 배합물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 하수오와 꾸지뽕잎을 포함하는 노화억제용 배합물에 관한 것이다.

【배경기술】

사람은 나이가 들어감에 따라 퇴행성 질환을 동반하는 노화(aging)가 일어난다. 이러한 노화는 피부의 탄력성 감소, 등의 구부러짐, 얼굴의 검버섯, 체력 저하 등의 외적 현상 이외에 내적인 변화로서 세포에서는 소모 색소(消耗色素)의 침착(沈着), 소지방구(小脂肪球)의 축적, 세포의 용적 감소, 핵(核)의 위축, 호르몬 분비 감소 등이 일어난다.

사람의 노화원인은 여러 가지가 있으며, 시간의 경과에 따라서 일어나는 세포 내의 DNA 분자의 절단 증가, DNA 분자 장애의 회복능력 감퇴, DNA 유전정보의 전사와 해독의 오류, 콜라겐 등 생체내 거대분자의 다리결합[架橋結合] 증가, 면역기능의 저하 등이 노화의 원인으로 밝혀지고 있다.

상기의 노화원인 이외에도 자유기(free radicals)의 증가 또한 노화의 중요한 원인이다.

세포는 활성산소를 제거하는 효소(superoxide dismutase, SOD) 등, 자유기를 제거하는 여러 기능을 지니고 있다. 그러나 일부의 자유기는 제거되지 못하고 세포 속의 DNA(deoxyribonucleic acid), 단백질 및 지질을 파괴한다. 따라서 자유기는 노화와 관련된 질병의 중요한 원인이다.

노화현상의 마지막은 생명현상의 종료이기 때문에 노화를 억제하기 위한 많은 연구가 이루어지고 있다. 노화는 자연현상의 하나이기 때문에 이를 완전히 극복할 수는 없으나, 여러 가지 기능성 성분의 섭취에 의해 노화의 진행을 억제할 수 있다.

따라서 여러 가지 기능성 성분을 이용하여 노화의 진행을 억제하기 위한 노력이 많이 이루어지고 있다.

본 발명은 상기의 노화진행을 늦추기 위한 노화억제용 배합물에 관한 것으로 보다 상세하게는 하수오와 꾸지잎을 포함하는 노화억제용 배합물에 관한 것이다.

본 발명의 노화억제용 배합물의 성분인 하수오(*Polygonum multiflorum*)는 마디풀과의 덩굴성 여러해살이풀로서, 특히 붉은 빛을 띤 갈색 덩이뿌리를 한방에서 하수오라고 하며 강장제, 강정제, 완하제 등으로 사용하고 있다.

본 발명의 노화억제용 배합물의 성분인 꾸지뽕잎은 뽕나무과에 속하는 낙엽교목인 꾸지뽕나무의 잎이다. 꾸지뽕은 한국, 중국 및 일본에서 향암, 향염증, 간손상 등에 사용되는 중요한 전통 생약 중의 하나이다.

【발명의 내용】

【해결하고자 하는 과제】

본 발명은 노화억제용 배합물, 특히 산화적 스트레스에 의한 노화를 억제할 수 있는 노화억제용 배합물을 제공하고자 한다.

【과제 해결 수단】

본 발명은 노화억제용 배합물에 있어서, 하수오, 꾸지뽕잎을 포함하는 노화억제용 배합물을 제공하고자 한다.

본 발명의 노화억제용 배합물은 상기의 하수오, 꾸지뽕잎 성분 이외에 첨가제를 추가로 더 포함하는 노화억제용 배합물이다.

【효과】

본 발명의 노화억제용 배합물은 노화억제를 방지할 수 있다.

본 발명의 노화억제용 배합물은 마우스 실험에 의한 바, 뇌 및 간의 노화를 억제할 수 있다.

【발명의 실시를 위한 구체적인 내용】

본 발명은 노화억제용 배합물을 제공한다.

본 발명은 산화적 스트레스에 의한 노화를 억제할 수 있는 노화억제용 배합물을 나타낸다.

본 발명의 노화억제용 배합물은 하수오, 꾸지뽕잎을 포함한다.

상기에서 하수오는 노화억제용 배합물 전체 중량 대비 40~80% 포함될 수 있고, 꾸지뽕잎은 노화억제용 배합물 전체 중량 대비 20~60% 포함될 수 있다.

상기에서 하수오, 꾸지뽕잎을 포함하는 노화억제용 배합물은 고상(solid phase)으로 제형화 될 수 있다.

상기에서 하수오, 꾸지뽕잎을 포함하는 노화억제용 배합물은 산제

(powder), 환(丸)제, 캡슐(capsule)제, 펠렛(pellet) 중에서 선택된 어느 하나의 고상으로 제형화 될 수 있다.

상기에서 하수오, 꾸지뽕잎을 포함하는 노화억제용 배합물은, 먼저 분쇄기로 하수오, 꾸지뽕잎을 각각 분말화한 다음, 이러한 하수오 분말, 꾸지뽕잎 분말로부터 산제, 환제, 캡슐제, 펠렛 중에서 선택된 어느 하나의 고상으로 제형화 될 수 있다. 이때 하수오 분말 및 꾸지뽕잎 분말에 부형제를 첨가하여 하수오, 꾸지뽕잎을 포함하고 산제, 환제, 캡슐제, 펠렛 중에서 선택된 어느 하나의 고상으로 제형화된 노화억제용 배합물을 얻을 수 있다.

상기 산제, 환제, 캡슐제, 펠렛 중에서 선택된 어느 하나의 고상으로 제형화된 노화억제용 배합물을 얻기 위한 부형제는 당업자가 적의 선택하여 실시할 수 있으므로 이하 이에 대한 자세한 내용은 생략하기로 한다.

상기에서 하수오, 꾸지뽕잎을 포함하는 노화억제용 배합물은 액상(liquid phase)으로 제형화될 수 있다.

상기에서 하수오, 꾸지뽕잎을 포함하는 노화억제용 배합물은 열수추출물, 유기용매추출물 중에서 선택된 어느 하나의 액상으로 제형화될 수 있다.

상기에서 하수오, 꾸지뽕잎을 포함하는 노화억제용 배합물은 열수를 이용하여 하수오 열수추출물, 꾸지뽕잎 열수추출물을 얻은 후 각각의 하수오 열수추출물, 꾸지뽕잎 열수추출물을 혼합하여 액상 형태로 제형화될 수 있다.

상기 하수오 열수추출물은 하수오에 하수오 중량 대비 3~10배량의 정제수가 첨가되고, 80~100℃에서 최초 정제수의 부피 대비 10~30%가 되도록 추출된 다음 추출물이 여과되고, 여과된 추출물의 농도가 10~70브릭스(brix)가 되도록 농축되어 사용된다.

상기 꾸지뽕잎 열수추출물은 꾸지뽕잎에 꾸지뽕잎 중량 대비 3~10배량의 정제수가 첨가되고, 80~100℃에서 최초 정제수의 부피 대비 10~

30%가 되도록 추출된 다음 추출물이 여과되고, 여과된 추출물의 농도가 10~70브릭스(brix)가 되도록 농축되어 사용된다.

상기에서 하수오, 꾸지뽕잎을 포함하는 노화억제용 배합물은 유기용매를 이용하여 하수오 유기용매추출물, 꾸지뽕잎 유기용매추출물을 얻은 후 각각의 하수오 유기용매추출물, 꾸지뽕잎 유기용매추출물을 혼합하여 액상 형태로 제형화될 수 있다.

상기에서 하수오 유기용매추출물, 꾸지뽕잎 유기용매추출물을 얻을 때 사용하는 유기용매로 탄소수가 2개 내지 7개인 알코올 용매를 사용할 수 있다.

상기에서 하수오 유기용매추출물, 꾸지뽕잎 유기용매추출물을 얻을 때 사용하는 유기용매로 에탄올을 사용할 수 있다.

상기 하수오 유기용매추출물은 하수오에 하수오 중량 대비 3~5배량의 에탄올이 첨가되고, 60~70℃에서 6시간~48시간 동안 추출된 다음 추출물이 여과되고, 여과된 추출물의 농도가 10~80브릭스(brix)가 되도록 농축되어 사용될 수 있다. 이때 70~95% 농도의 에탄올을 사용할 수 있다.

상기 꾸지뽕잎 유기용매추출물은 꾸지뽕잎에 꾸지뽕잎 중량 대비 3~5배량의 에탄올이 첨가되고, 60~70℃에서 6시간~48시간 동안 추출된 다음 추출물을 여과되고, 여과된 추출물의 농도가 10~80브릭스(brix)가 되도록 농축되어 사용될 수 있다. 이때 70~95% 농도의 에탄올을 사용할 수 있다.

본 발명은 노화억제용 배합물은 노화억제의 효과를 향상시키기 위해 상기의 하수오, 뽕잎을 포함하는 노화억제용 배합물에 첨가제를 추가로 더 포함할 수 있다.

본 발명의 노화억제용 배합물은 노화억제의 효과를 향상시키기 위해 상기의 하수오, 꾸지뽕잎을 포함하는 노화억제용 배합물 100중량부에 대하여

홍삼, 인삼, 수삼, 장뇌삼, 스쿠알렌, 아스파라긴산, 클로렐라, 루이보스티, 우롱차, 녹차, 포도껍질, 포도씨, 레즈베라트롤, 비타민 C, 비타민 B, 토코페롤, 버섯, 동충하초, 백복령, 산수유, 마늘, 검은콩, 브로콜리, 오가피, 안토시아닌, 가지, β -카로틴, 세사미놀, 세사몰, 세사몰린, 오디, 창출, 두충 중에서 선택된 어느 하나 이상의 첨가제 0.1 ~ 10중량부를 추가로 더 포함할 수 있다.

본 발명의 노화억제 배합물에 있어서, 다양한 성분, 함량 등의 조건에 의한 노화억제 배합물을 조사한 바, 본 발명의 목적을 달성하기 위해서는 상기에서 언급한 조건에 의한 노화억제 배합물을 제공하는 것이 바람직하다.

이하 본 발명의 내용을 제조예, 실시예 및 시험예를 통하여 구체적으로 설명한다. 그러나, 이들은 본 발명을 보다 상세하게 설명하기 위한 것으로 본 발명의 권리범위가 이들에 의해 한정되는 것은 아니다.

<제조예 1> 하수오 추출물 제조

하수오에 하수오 중량 대비 5배량의 정제수를 첨가하고, 100℃에서 최초 정제수의 중량 대비 10%가 되도록 추출하여, 하수오 추출물을 얻은 후 이를 여과하였다.

상기 여과한 하수오 추출물을 60Brix가 되도록 농축하여 하수오 열수추출물을 제조하였다.

<제조예 2> 꾸지뽕잎 추출물 제조

꾸지뽕잎에 꾸지뽕잎 중량 대비 5배량의 정제수를 첨가하고, 100℃에서 최초 정제수의 중량 대비 10%가 되도록 추출하여, 꾸지뽕잎 추출물을 얻은 후 이를 여과하였다.

상기 여과된 꾸지뽕잎 추출물을 60Brix가 되도록 농축하여 꾸지뽕잎 열수추출물을 제조하였다.

<실시예 1>

상기 제조예 1에서 얻은 60Brix 하수오 추출물 50중량%과 상기 제조예 2에서 얻은 60Brix 꾸지뽕잎 추출물 50중량%를 혼합하여 노화억제용 배합물을 제조하였다.

<실시예 2>

상기 제조예 1에서 얻은 60Brix 하수오 추출물 40중량%과 상기 제조예 2에서 얻은 60Brix 꾸지뽕잎 추출물 60중량%를 혼합하여 노화억제용 배합물을 제조하였다.

<실시예 3>

상기 제조예 1에서 얻은 60Brix 하수오 추출물 60중량%과 상기 제조예 2에서 얻은 60Brix 꾸지뽕잎 추출물 40중량%를 혼합하여 노화억제용 배합물을 제조하였다.

<실시예 4>

상기 제조예 1에서 얻은 60Brix 하수오 추출물 80중량%과 상기 제조예 2에서 얻은 60Brix 꾸지뽕잎 추출물 20중량%를 혼합하여 노화억제용 배합물을 제조하였다.

<실시예 5>

상기 제조예 1에서 얻은 60Brix 하수오 추출물 50중량%과 상기 제조예 2에서 얻은 60Brix 꾸지뽕잎 추출물 50중량%를 혼합하여 노화억제용 배합물을 제조하였다.

상기의 하수오, 꾸지뽕잎을 포함하는 노화억제용 배합물 100중량부에 첨가제로 산수유 추출물 5중량부를 첨가하여 하수오, 꾸지뽕잎 및 산수유를 포함하는 노화억제용 배합물을 제조하였다.

상기 산수유 추출물은 하수오 대신 산수유를 사용하는 것을 제외하고는 상기 제조예 1과 동일한 방법에 의해 제조되었다.

<시험예> D-galactose로 노화가 유도된 생쥐에서 시료의 노화억제 작용 시험(Biogerontol. 4, 15 (2003) 참조)

(1)실험방법

Superoxide dismutase(SOD)와 total antioxidant status(TAS) 시험 키트(test kits)는 RANDOX(영국)에서 구입하였다.

Acetylthiocholine iodide, DTNB, trichloroacetic acid(TCA), thiobarbituric acid(TBA) 및 D-galactose는 Sigma에서 구입하였다.

3월령 C57 BL/6J male mice는 충북 음성의 대한바이오링크에서 구입했다. 생쥐는 45일간 매일 : ① 0.3ml PBS as vehicle control (정상 대조군); ② D-galactose at 0.5g/kg (5% D-galactose, 노화 대조군)가 피하주사되었다. 생쥐는 시험 마지막 날 도살되었고, 피, 혈청 및 장기는 -70°C 에서 보관되었다.

제조예 1의 하수오 추출물, 제조예 2의 꾸지뽕잎 추출물 및 실시예 1의 하수오 추출물과 꾸지뽕잎 추출물이 혼합된 시료는 10시와 17시 하루 2회 경구투여되었으며, 시료의 1일 투여량은 매주 쥐의 체중을 측정하여 사람의 1일 섭취량과 사람과 쥐의 평균 대사체중(체중^{3/4}) 비율로부터 환산되었는데(Nutr. Res. 11, 1465 (1991)), 사람의 1일 권장 섭취량은 하수오 추출물 1.8g, 꾸지뽕잎 추출물 1.5g, 하수오와 꾸지뽕잎 추출물 배합물 3.3g (김창민 등, 완역 중약대사전, 도서출판 정담 (1998)), 그리고 사람의 평균 체중은 65kg으로 계산하였다. 쥐의 체중은 매주 측정되었다.

생쥐의 적혈구의 SOD 활성은 RANSOD(RANDOX)를 이용하여 toxic superoxide radical의 dismutation를 측정하였다. 30~60% 범위에서 자유기(radical) 억제제의 표준곡선을 그렸다. 간과 뇌는 PBS로 10% 균질액을 만들어 사용하였다.

혈청의 총 산화상태(total antioxidant status)는 RANDOX kit로 측정하였다.

MDA(malondialdehyde)를 측정하기 위하여 TCA(15ml, 100%), 0.375g TBA, 25ml HCl(1N) 및 40mg BHT(butylated hydroxytoluene)/에탄올(ethanol)를 혼합하고, 100ml이 되게 재증류수(redistilled water)를 넣어 TBA 용액을 만들었다. 간과 뇌의 10% PBS 균질액을 1ml TBA 용액과

섞고, 0.5ml 시료와 50mM BHT 15 μ l를 100 $^{\circ}$ C에서 15분간 반응시키고 얼음물로 냉각시켰다. 3000rpm에서 30분간 원심분리하고 535nm에서 흡광도를 측정하여 말론다이알데히드(malondialdehyde)를 정량하였다. 피는 그대로 사용하였다.

단백질 농도는 bovine serum albumin을 사용하여 Bradford 방법(Bio-Rad)으로 측정하였다. 헤모글로빈(Hemoglobin) 농도는 SIGMA 525-A kit로 측정하였다.

측정치는 스튜던트 t 검정 (Student's t-test) 또는 던칸 다중 범위 시험(Duncan's multiple range test)으로 분석되었다.

(2) 실험결과

모든 군에서 시각적 이상이 발견되지 않았고, 정상적 체중증가를 보였다. 혈액의 생화학적 지표로 malondialdehyde(MDA), superoxide dismutase(SOD) 및 total antioxidant status(TAS)가 측정된 결과를 표 1에 나타내었다.

MDA는 지질 과산화의 지표물질이고, SOD는 활성산소를 감소시키는 효소이며, TAS는 산화적 스트레스(oxidative stress) 초기에 증가한다.

5% D-galactose로 처리된 노화 대조군은 정상 대조군에 비하여 혈청 MDA와 TAS가 증가했고 SOD가 감소했다 ($P < 0.05$). MDA의 증가와 SOD의 감소에 의한 산화적 스트레스가 D-galactose에 의한 노화의 원인으로 알려져 있다 (Cell Mol Neurobiol. Aug 21 (2007) Temporal Gene Expression Profile in Hippocampus of Mice Treated with D-galactose). 하수오 추출물과 꾸지뽕잎 추출물이 혼합된 혼합물의 섭취가 5% D-galactose로 유도된 혈액 생화학 지표를 개선시켰다. 하수오 추출물군

에서 SOD가 정상 대조군과 같은 수준으로 개선되었으며, 꾸지뽕잎 추출물군에서는 TAS가 정상 대조군과 같은 수준으로 감소했다. 특히 중량 기준으로 50%의 하수오 추출물과 50%의 꾸지뽕잎 추출물이 배합된 실시예군에서는 MDA, SOD 및 TAS의 모든 측정치가 정상 대조군과 같은 수준으로 개선되어 두 추출물의 배합이 산화적 스트레스에 의한 생체의 노화를 효과적으로 억제시킬 수 있음을 보여주고 있다.

표 1. 생쥐 혈액의 MDA, SOD 및 TAS 측정치¹

항목	MDA ($\mu\text{mol/g protein}$)	SOD (U/mg Hb)	TAS(mM)
정상 대조군	1.02 \pm 0.16 ^a	136.81 \pm 31.83 ^b	0.17 \pm 0.09 ^a
노화 대조군	1.53 \pm 0.22 ^b	71.94 \pm 18.35 ^a	0.43 \pm 0.15 ^b
하수오 추출물	1.26 \pm 0.21 ^{ab}	114.74 \pm 16.24 ^b	0.24 \pm 0.10 ^{ab}
꾸지뽕잎 추출물	1.14 \pm 0.13 ^a	97.34 \pm 15.44 ^{ab}	0.27 \pm 0.15 ^{ab}
실시예 1	1.09 \pm 0.17 ^a	123.74 \pm 16.01 ^b	0.20 \pm 0.07 ^a

¹평균치 \pm SEM, 1군당 10마리. 같은 칼럼에서 서로 다른 위첨자를 갖는 값들은 유의차가 있음($P<0.05$).

표 2는 하수오 추출물과 꾸지뽕잎 추출물의 배합비가 다른 실시예 2, 실시예 3, 실시예 4의 노화억제 배합물에 대한 생쥐 뇌 조직의 MDA와 SOD에 미치는 영향을 조사한 것이다. 노화 대조군에서 정상 대조군에 비하여 MDA가 증가하고 SOD가 감소했다 ($P<0.05$). 실시예 3의 노화억제 배합물(하수오 추출물과 꾸지뽕잎 추출물의 배합비가 60 : 40)일 때 노화억제 활성이 가장 우수하여 MDA와 SOD 모두 정상 대조군과 같은 수준으로 개선되었다. 실시예 2의 노화억제 배합물 및 실시예 4의 노화억제 배합물에서도 MDA와 SOD 수준이 개선되었으나 통계적 유의차는 없었다.

표 2. 하수오와 꾸지뽕잎 추출물 배합비가 뇌 조직의 MDA와 SOD에 미치는 영향¹

항목	MDA($\mu\text{mol/g protein}$)	SOD(U/mg protein)
정상 대조군	10.71 \pm 1.14 ^a	14.87 \pm 1.25 ^b
노화 대조군	13.85 \pm 2.49 ^b	12.76 \pm 1.89 ^a
실시예 2	11.27 \pm 1.38 ^{ab}	13.05 \pm 1.94 ^a
실시예 3	10.89 \pm 1.26 ^a	14.41 \pm 1.91 ^b
실시예 4	11.61 \pm 1.34 ^b	13.67 \pm 1.70 ^{ab}

¹평균치 \pm SEM, 1군당 10마리. 같은 칼럼에서 서로 다른 위첨자를 갖는 값들은 유의차가 있음($P<0.05$).

표 3은 하수오 추출물과 꾸지뽕잎 추출물 배합비가 다른 노화억제용 배합물에 대한 생쥐 간 조직의 MDA와 SOD에 미치는 영향을 조사한 것이다.

실시예 2의 노화억제 배합물(하수오 추출물과 꾸지뽕잎 추출물의 배합비가 60 : 40)이 노화억제 활성이 가장 우수하여 MDA가 정상 대조군과 같은 수준으로 감소하였으며, SOD는 정상 대조군보다도 다소 증가하였다. 실시예 3의 노화억제 배합물, 실시예 4의 노화억제 배합물에서도 MDA와 SOD 수준이 개선되었으나 통계적 유의차는 없었다.

상술한 바와 같이, 본 발명의 바람직한 실시예를 참조하여 설명하였지만 해당 기술 분야의 숙련된 당업자라면 하기의 특허청구범위에 기재된 본 발명의 사상 및 영역으로부터 벗어나지 않는 범위 내에서 본 발명을 다양하게 수정 및 변경시킬 수 있음을 이해할 수 있을 것이다.

표 3. 하수오와 꾸지뽕잎 추출물 배합비가 간 조직의 MDA와 SOD에 미치는 영향¹

항목	MDA($\mu\text{mol/g protein}$)	SOD(U/mg protein)
정상 대조군	0.51 \pm 0.09 ^a	17.84 \pm 3.25 ^a
노화 대조군	0.68 \pm 0.13 ^b	17.76 \pm 4.89 ^a
40 : 60	0.59 \pm 0.12 ^{ab}	17.83 \pm 3.94 ^a
60 : 40	0.53 \pm 0.10 ^a	19.99 \pm 2.89 ^b
80 : 20	0.61 \pm 0.14 ^b	17.87 \pm 3.70 ^a

¹평균치 \pm SEM, 1군당 10마리. 같은 칼럼에서 서로 다른 위첨자를 갖는 값들은 유의차가 있음($P < 0.05$).

【특허청구범위】

【청구항 1】

노화억제용 배합물에 있어서,
하수오, 꾸지뽕잎을 포함하는 것을 특징으로 하는 노화억제용 배합물.

【청구항 2】

제1항에 있어서, 하수오는 노화억제용 배합물 전체 중량 대비 40~80% 포함되는 것을 특징으로 하는 노화억제용 배합물.

【청구항 3】

제1항에 있어서, 꾸지뽕잎은 노화억제용 배합물 전체 중량 대비 20~60% 포함되는 것을 특징으로 하는 노화억제용 배합물.

【청구항 4】

제1항에 있어서, 하수오, 뽕잎을 포함하는 노화억제용 배합물은 산제(powder), 환(丸)제, 캡슐(capsule)제, 펠릿(pellet) 중에서 선택된 어느 하나의 고상 형태의 제형 또는 추출물의 액상 제형인 것을 특징으로 하는 노화억제용 배합물.

【청구항 5】

제1항에 있어서, 홍삼, 인삼, 수삼, 장뇌삼, 스쿠알렌, 아스파라긴산, 클로렐라, 루이보스티, 우롱차, 녹차, 포도껍질, 포도씨, 레즈베라트롤, 비타민 C, 비타민 B, 토코페롤, 버섯, 동충하초, 백복령, 산수유, 마늘, 검은콩, 브로콜리, 오가피, 안토시아닌, 가지, β -카로틴, 세사미놀, 세사몰, 세사몰린, 오디, 창출, 두충 중에서 선택된 어느 하나 이상의 첨가제 0.1~10중량부를 추가로 더 포함하는 것을 특징으로 하는 노화억제용 배합물.

제7절 꾸지뽕의 활용

1. 음료

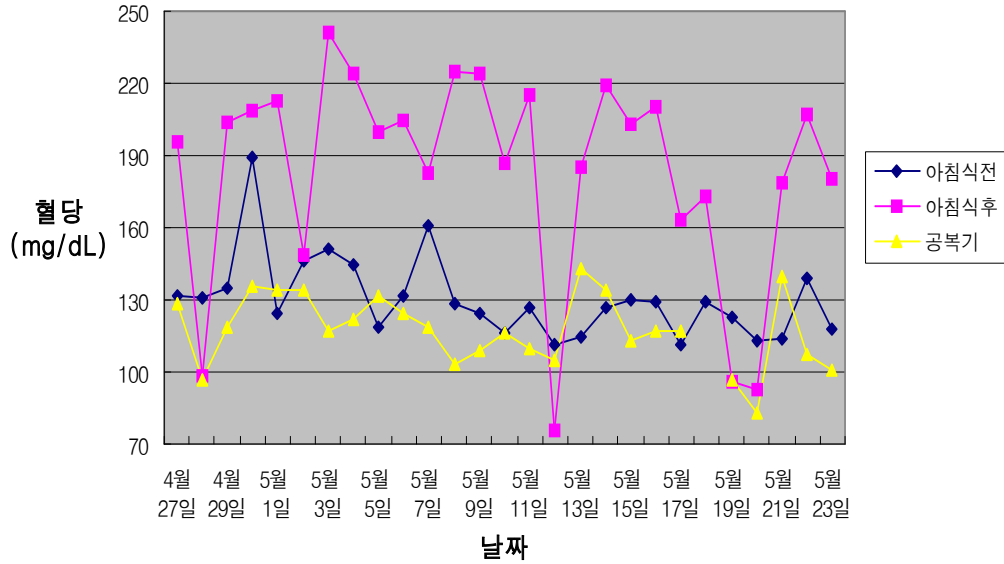
꾸지뽕잎의 혈당 및 체중 조절 기능을 활용하여 참여기업에서 아래와 같은 제품이 제조되었다.



아래 그림은 꾸지뽕잎 추출물 배합액의 섭취가 당뇨인의 혈당조절에 미치는 영향을 조사한 것이다.

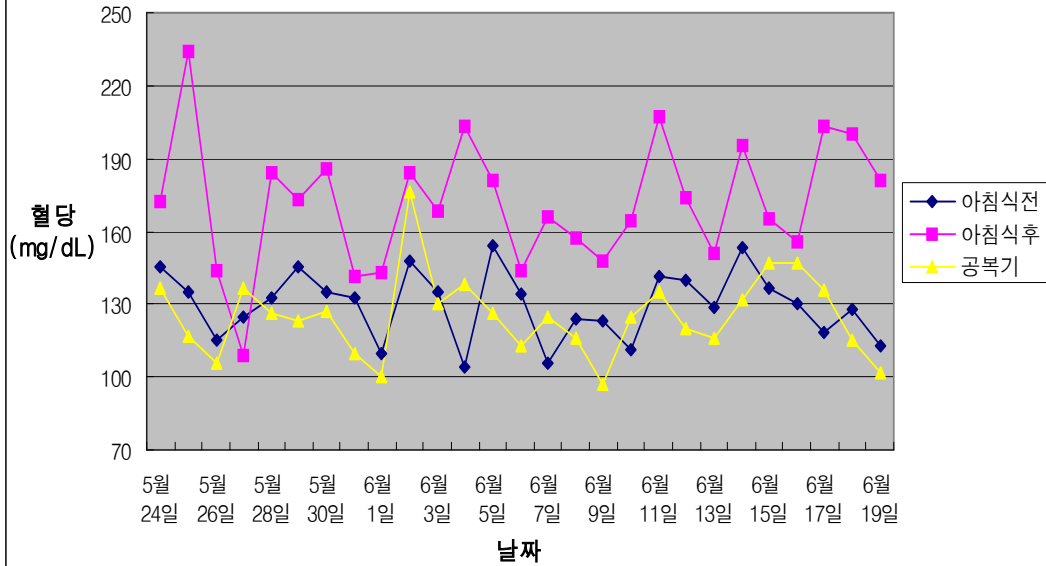
꾸지뽕잎 추출물 배합액 섭취전 혈당 측정 (인슐린 투여)

2006.4.27 ~ 2006.5.23(27일간)



꾸지뽕잎 추출물 배합액 섭취후 혈당 측정 (인슐린 중지)

2006.5.24 ~ 2006.6.19(27일간)



위 그림은 꾸지뽕잎 추출물 배합액의 섭취가 당뇨인의 혈당을 잘 조절했음을 보여주고 있다. 당뇨병의 여러 증상은 조로증(accelerated aging)과 매우 유사하다 (9). 따라서 꾸지뽕잎 추출물은 노화를 방지하는 우수한 건강식품의 원료로 활용될 수 있다.

2. 차

Polyphenols는(그림 1) 항산화제로 과일, 채소, 차 등에 들어있다 (46). 항산화제인 polyphenols는 산화적 손상으로부터 세포를 보호하여 산화적 stress와 관련된 여러 퇴행성 질환을 억제한다. 실험적 연구에서 polyphenols는 심장병, 암, 골다공증, 당뇨병 및 신경변성증을 예방했다 (47). 특히 polyphenols의 섭취는 죽상경화증에서 발생하는 내피 병변의 중요 기전인 저밀도 지단백의 산화를 억제하여 죽상 병변의 발생을 저지했다 (48-51). 또한 통상의 항산화 작용과는 다른, polyphenols의 질병 예방 기전이 제시되고 있다. 더욱이 polyphenols는 산화촉진제로 작용하여 세포자살을 유도하고 세포증식을 억제한다 (52, 53). Polyphenols는 telomerase(54), cyclooxygenase(55, 56), lipoxygenase(57, 58) 같은 효소 및 signal transduction 경로와 세포 수용체의 상호작용을 억제하거나 감소시킨다 (59-61). 또한 polyphenols는 caspase 종속 경로들 (62, 63), 세포주기 조절 (64) 및 혈소판 기능 (65)에 영향을 준다. 이러한 polyphenols의 작용들이 여러 만성 퇴행성 질환을 억제한다 (66, 67).

꾸지뽕 생잎의 총 polyphenol 화합물의 함량은 Folin-Denis법으로 측정하였다 (68). 꾸지뽕 잎을 대·중·소형의 세 종류로 분류하여 측정하였다. 꾸지뽕 나무의 잎 약 5 g을 환류 냉각 장치가 있는 250 mL 삼각플라스크에 넣고, 약 50 mL의 80% 에탄올 용액을 첨가한 후, 시료의 효소 활성을 억제하기

위하여 냉각관이 있는 항온조에서 80℃에서 5분간 중탕하고, 파쇄 (Homogenizer drives, Janke & Kunkel, IKA-Labortechnik, ULTRA-TURRAX T25)하여, glass filter로 흡인 여과한 후, 잔사는 2회 소량의 80% 에탄올로 세척하고, 여액을 합쳐서 100 mL로 정용하였다. 이 시료 용액 100 µL에 증류수 1 mL와 phenol 시약 100 µL를 첨가한 후, 6분간 실온에 방치하고 10% Na₂CO₃ 2 mL과 증류수 2 mL를 첨가하여 혼합한 후 60분간 실온에 방치한 다음 분광광도계를 이용하여 725 nm에서 총 polyphenols 함량을 측정하였다.

표 1은 꾸지뽕 잎의 크기별 총 polyphenols 함량을 나타낸 것이다. 잎의 크기가 작을수록 총 polyphenols 함량이 감소하였으나 통계적 유의차는 없었다. 따라서 꾸지뽕 잎의 성숙도에 따른 총 polyphenols 함량의 차이는 없는 것으로 생각된다.

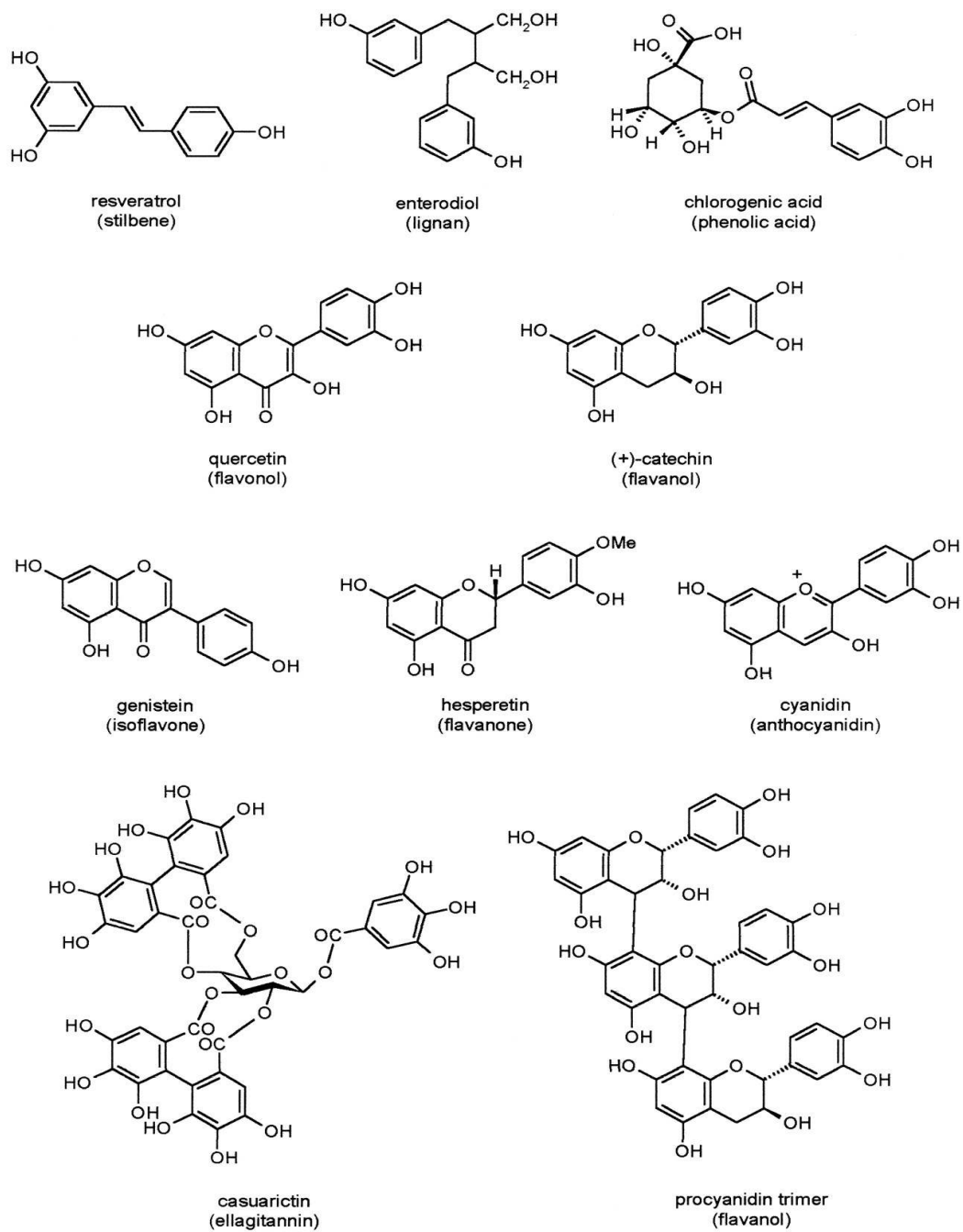


Fig. 1. Chemical structures of the main classes of polyphenols.

Table 1. Total polyphenols content of *Cudrania tricuspidata* leaves of different lengths¹

Length(cm)	Total polyphenols content (mg% as catechin)
3.6 - 4.2	1290.3±30.1
2.6 - 3.2	1283.7±26.9
1.7 - 2.3	1265.0±19.6

¹Values are means±SD, n=4.

표 2는 꾸지뽕 잎의 수확시기별 총 polyphenols 함량을 나타낸 것이다.

Table 2. Monthly variations of total polyphenols content of *Cudrania tricuspidata* leaves¹

Harvest month	Total polyphenols content (mg% as catechin)
May	1273.5±31.9
June	1289.3±29.1
August	1301.7±21.0

¹Values are means±SD, n=4.

기온이 높은 달일수록 총 polyphenols 함량이 증가하였으나 통계적 유의차는 없었다. 따라서 꾸지뽕 잎의 수확시기에 따른 총 polyphenols 함량의 차이는 없는 것으로 생각된다.

꾸지뽕 잎 침출차 제조용 꾸지뽕 잎 시료를 티백용지에 1.5 g씩 포장하여

80°C의 온수 100 mL에 첨가하여 5분간 침출하였다. 이상의 침출조작을 3회 반복 실시하여 얻은 침출액을 가용성 고형분 함량 측정, 총 polyphenols 함량 측정 및 관능검사용 시료로 사용하였다.

침출액의 가용성 고형분 함량은 침출용액 20 mL를 항량을 구한 수기에 취하여 105°C에서 증발 건조시킨 후 그 무게를 측정하였으며, 침출액 조제에 사용된 꾸지뽕 잎 티백차의 건물 시료량에 대한 백분율로써 고형분 함량을 나타내었다 (69).

꾸지뽕 잎 티백차 침출액의 관능적 품질을 평가하기 위하여 본 실험에 흥미가 있고 차이 식별 능력이 있는 관능검사 요원 15명을 선정하여 색상, 향, 맛 및 전반적 기호도에 대한 관능평가를 실시하였다. 관능검사는 한번에 3종류의 시료를 제시하여 9점 채점법 (70, 71)으로 실시하였다. 이때 관능평점은 9: 대단히 좋다(very good), 7: 약간 좋다(good), 5: 보통이다(fair), 3: 약간 나쁘다(poor), 1: 대단히 나쁘다(very poor)로 하였다.

표 3은 110°C에서의 볶음 시간이 꾸지뽕 잎 티백차의 품질에 미치는 영향을 나타낸 것이다.

Table 3. Effect of roasting time at 110°C on physicochemical and organoleptic properties of tea of *Cudrania tricuspidata* leaves¹

Roasting time (min)	0	5	10	15
Soluble solid content (g%)	40.6±2.0 ^a	43.9±2.7 ^{ab}	48.3±2.1 ^c	46.1±2.8 ^{ac}
Total polyphenol content (mg% as catechin)	746.5±16.0 ^a	740.1±13.7 ^a	789.3±14.1 ^b	721.9±15.8 ^a
Overall palatability	5.6±0.5 ^a	7.3±0.7 ^b	7.8±0.4 ^b	7.6±0.6 ^b

¹Values are means±SE, n=4. Values with different superscripts within a row are significantly different at p<0.05.

가용성 고형분 함량 및 총 polyphenols 함량은 10분 처리구에서 유의하게 증가하였고, 전체 기호도는 모든 볶음 처리구에서 유의하게 증가하였다. 따라서 꾸지뽕 잎 침출차를 제조하기 위하여 꾸지뽕 잎을 110℃에서 10분간 볶는 것이 적당하다고 생각된다.

아래 그림은 참여기업에서 제조된 꾸지뽕잎 침출차의 제품 사진이다.



3. 식품첨가제

꾸지뽕 잎을 수세 후 건조하여 마쇄하고, 100oC에서 20시간 열수추출(1 Ton Extractor)한 후 cheese clothes를 이용하여 여과하였으며, 추출액을

진공농축기(Vacuum Batch Evaporator)로 감압 농축한 후 동결건조기로 건조하여 -70°C 에 저장하면서 실험에 사용하였다 (Fig. 2).

Wash and roast *Cudrania tricuspidata* leaves at 110°C for 10 min

↓

Make powder using a mill

↓

Extract with water (1:20. wt/wt) at 95°C for 20 hrs

↓

Filter through cheese clothes

↓

Concentrate using a vacuum evaporator

↓

Freeze-dry

↓

Water extract of *Cudrania tricuspidata* leaves

Fig. 2. Flow diagram of extraction procedures of *Cudrania tricuspidata* leaves with water.

꾸지뽕 잎 추출물의 첨가량을 달리한 네 종류의 흰밥을 다음과 같이 취반하였다. 백미 360 g (4인분)을 5회 수세하고 60분간 수침한 후 꾸지뽕 잎 추출물을 밥 무게의 0.0%, 0.1%, 0.2% 및 0.3% (w/w) 넣고 수세전 쌀 무게의 1.5배의 물에 첨가하여 취반하였다. 취반 용기는 압력솥(pspc 20C, Pungnyun Pressure Cooker Co., Korea)을 이용하였으며 열원은 가스레인

지를 이용하였다. 취반은 강한 불로 15분 가열한 후 불을 끄고 10분간 뜸을 들었다.

네 종류의 흰밥에 대한 소비자의 기호도를 다음과 같이 평가하였다. 30인을 대상으로 향미, 윤기, 색, 맛, 점도, 경도, 입안 깔깔함 등 7가지 항목에 대해 9점 척도법으로 조사하였다. 모든 항목은 수치가 클수록 기호도가 높은 것으로 평가하였다 (72).

본 실험을 통해 얻은 결과의 통계처리는 SPSS 12.0을 사용하여 수행하였다. 모든 측정 항목은 평균과 표준편차로 제시하였다. 네 종류의 흰밥에 대한 평균의 차이는 ANOVA로 유의성을 확인한 후 Tukey's test로 사후검정을 실시하였다. 시료 간 평균값의 유의차를 $p < 0.05$ 수준에서 평가하였다.

꾸지뽕 잎 추출물을 첨가한 흰밥의 기호도 조사 결과는 표 4와 같았다. 밥의 기호도에 관한 7항목 즉, 향미, 윤기, 색, 맛, 점성, 경도 및 깔깔함 모두 꾸지뽕 잎 추출물 첨가로 증가하는 경향을 보였다. 특히, 0.2 % 첨가구에서 향미, 맛, 점성, 경도 및 전반적 기호도가 대조구에 비해 유의차를 보여 흰밥에 대한 꾸지뽕 잎 추출물의 최적 첨가 수준은 0.2 %인 것으로 나타났다.

이상의 결과들은 꾸지뽕 잎 추출물이 여러 식품의 건강기능성을 높일 수 있음은 물론 맛과 선도를 증진시킬 수 있는 우수한 식품첨가제로 쓰일 수 있는 가능성을 보여주고 있다.

4. 국수

건강에 대한 관심의 증가로 국수에 김 분말, 복령 분말, 칩 전분 등의 건강 지향적 소재를 첨가하는 연구가 진행되고 있다 (73-75). 본 연구에서는 꾸지뽕잎 분말을 첨가한 건면을 제조하였으며, 꾸지뽕잎의 양이 선호도에 미치는

영향을 조사하였다.

Table 4. Effect of extract of *Cudrania tricuspidata* leaves on the preference of cooked rice¹

Extract(%)	0.0	0.1	0.2	0.3
Flavor	5.8±1.2 ^a	6.0±1.4 ^a	6.5±1.5 ^b	5.9±1.6 ^a
Gloss	7.4±1.5 ^a	7.6±1.5 ^a	8.0±1.3 ^a	7.5±1.5 ^a
Color	5.8±1.6 ^a	5.9±1.2 ^a	6.4±1.6 ^a	6.0±1.3 ^a
Taste	6.2±1.4 ^a	6.8±1.1 ^a	7.8±1.4 ^b	6.7±1.4 ^a
Viscosity	6.6±1.3 ^a	7.0±1.6 ^{ab}	7.3±1.1 ^b	6.5±1.5 ^a
Hardness	6.3±1.4 ^a	6.3±1.3 ^a	6.9±1.2 ^a	6.4±1.8 ^a
Coarseness	7.0±0.7 ^a	7.1±1.2 ^a	7.8±1.3 ^b	7.5±1.7 ^{ab}
Overall acceptability	6.4±1.3 ^a	6.7±1.5 ^a	7.2±1.4 ^b	6.6±1.6 ^a

¹Values are means±SD of four replicates. Values with different superscripts within a row are significantly different (p<0.05) by ANOVA with Tukey's test.

동결건조된 꾸지뽕잎 분말 (100 mesh), 대한제분(주)의 중력분 (수분 13.8 %, 회분 0.403 %, 단백질 9.42 %) 및 소금[한주(주)]를 사용해 국수를 제조하였다.

밀가루 사용량의 0 %, 3 %, 6 % 및 9 %를 꾸지뽕잎 분말로 대체한 복합분을 제조하였으며, 복합분의 2 %에 해당하는 소금을 첨가해 면을 제조하였다. 꾸지뽕잎 분말은 흡수력이 강해 반죽형성 능력에 영향을 주므로, 꾸지뽕잎 분말의 함량에 따라 가수량이 조절되었다. 면 제조시, 손으로 20 분간 반

죽하여 polyethylene bag에 넣어 40 분간 숙성시키고 가정용 국수제조기 (아륙산업사)를 사용해 롤 간격을 3, 2.6, 2.2, 1.8 mm로 점차 줄여가며, 각각 2회씩 sheeting하여 면대를 형성하였다. 끝으로 생면을 일광이 들지 않고 바람이 잘 통하는 서늘한 곳에서 건조하여 25 cm 길이로 절단하였다.

조미액을 사용하면 꾸지뽕잎 분말의 맛과 향을 느끼기 어려우므로, 조미액 대신 생수를 사용하였다. 건면을 4분간 끓는 물에서 삶은 후 냉수로 식히고 일정량의 생수가 담긴 cup에 넣어, 관능검사를 하였다. 관능검사 요원 24명을 대상으로 국수의 색, 조직, 맛, 향, 후미, 전체적 선호도 등을 조사했다. 각 항목은 순위 평점법으로 대단히 나쁘다 1점, 나쁘다 2점, 약간 나쁘다 3점, 보통이다 4점, 약간 좋다 5점, 좋다 6점 및 대단히 좋다는 7점으로 평가하였다. 결과용 SPSS 통계 program을 이용하여 ANOVA를 실시하였으며, 유의차가 있으면 Duncan's multiple range test를 실시하여 집단간의 유의성을 검증하였다.

국수의 색깔, 조직, 맛, 향, 후미 및 전체적 기호도를 검사한 결과를 표 5에 나타내었다. 국수의 색, 맛 및 향은 꾸지뽕잎 분말의 첨가 수준에 따른 유의차를 보이지 않았다. 씹을 때의 조직감, 후미 및 전체적 기호도의 경우 대조구와 3, 9 % 첨가구 간의 유의차가 없었으나, 6 % 첨가구는 유의한 기호도 증가를 보였다.

5. 술

꾸지뽕 열매를 10월 중순 채취하여 세척후 물기를 제거하고 열매 1 L당 35 % 과일주용 alcohol 2.7 l을 넣어 침출하였다. Sucrose를 2, 4 % 첨가하였으며, 상온에서 60일 침출하여 여과하고, 밀폐된 유리병에 담아 관능검사시까지 5℃ 냉장소에 보관하였다. 꾸지뽕 열매 침출주에 대한 관능검사는

Table 5. Sensory evaluation of cooked noodle containing different levels of leaf powder of silkworm thorn

Silkworm thorn leaf (%)	0	3	6	9
Color	5.14±1.12	5.16±1.35	5.17±1.13	5.12±1.55
Texture	5.08±1.14 ^a	5.07±1.56 ^a	5.99±1.21 ^b	5.36±1.19 ^{ab}
Taste	4.62±1.34	4.64±1.30	4.60±1.31	4.56±1.18
Flavor	4.11±1.09	4.03±1.23	3.97±1.15	3.89±1.32
Aftertaste	4.57±1.11 ^a	4.82±1.21 ^{ab}	5.03±1.19 ^b	4.60±1.13 ^a
Overall acceptance	4.79±1.22 ^a	4.81±1.40 ^a	5.07±1.20 ^b	4.72±1.25 ^a

24인을 대상으로 실시하였으며, 검사방법은 전반적 기호도, 색, 향, 맛 및 alcohol 도수에 대해 9점 채점법으로 실시했다.

표 6은 가당수준별 선호도 검사 결과이다.

Table 6. Palatability of the fruit wine of silkworm thorn

Sucrose(%)	0	2	4
Palatability(persons)(%)	3(12)	17(71)	4(17)

무가당구에 비해 가당구가 선호되어, 2 % 가당구가 71 %의 관능검사인에 의해 선호되었다.

표 7은 2 %의 sucrose가 가당된 꾸지뽕 열매 침출주의 기호도 검사 결과이다.

Table 7. Sensory evaluation of the fruit wine of silkworm thorn

Silkworm thorn fruit	Color	Flavor	Taste	Alcohol content	Overall palatability
-	5.06	4.76	5.13	4.04	5.16
+	7.18*	6.97*	6.80*	5.98*	6.83*

* $p < 0.05$.

꾸지뽕 열매가 침출되지 않은 대조군에 비하여 모든 조사 항목의 조사치가 증가하여, 꾸지뽕 열매 성분의 침출에 의하여 전반적 기호도가 증가함이 입증되었다.

제8절 꾸지뽕잎의 아토피 피부염 억제 관련 특허 (출원번호 제10-2009-0010704)

【요약서】

【요약】

본 발명은 꾸지뽕잎과 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물에 관한 것으로 보다 상세하게는 꾸지뽕잎 75~95중량% 및 동과 5~25중량%로 이루어진 것을 특징으로 하는 꾸지뽕잎과 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 꾸지뽕잎과 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물을 이용하여 어린이, 성인에게서 발생하는 아토피 피부염의 발병을 억제할 수 있어 아토피 피부염 환자의 아토피를 감소시켜 아토피 피부염 환자의 고통 경감에 기여할 수 있다.

【색인어】

꾸지뽕잎, 동과, 아토피 피부염

【명세서】

【발명의 명칭】

꾸지뽕잎과 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물
{Composition comprising *Cudrania tricuspidata* leaf and wax gourd for inhibiting atopic dermatitis}

【발명의 상세한 설명】

【기술분야】

본 발명은 꾸지뽕잎과 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물에 관한 것으로 보다 상세하게는 꾸지뽕잎 75~95중량% 및 동과 5~25중량%로 이루어진 것을 특징으로 하는 꾸지뽕잎과 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물에 관한 것이다.

【배경기술】

아토피 피부염은 인구의 2~7%에서 발생하는 알러지(allergy)성 피부병으로 생후 1개월에서 1년 사이의 유아에게서 주로 발병하고 3세가 되면 어느 정도 가라앉으나 생활환경, 개인차 등에 의해 다시 재발할 수 있다(L. U. Pizzorno et al., Natural Medicine Instructions for Patients, Churchill Livingstone, 2002).

아토피 피부염은 전형적으로 손의 피부, 두피, 얼굴, 목 부위, 팔꿈치 및/또는 무릎의 주름에서 나타난다. 아토피 피부염이 발병된 피부는 매우 건조하고 가려우며, 염증이 생기고 비늘처럼 벗겨진다.

긁고 문지르면 뚜렷하고 깊게 주름진 두꺼운 피부가 검어지고 굳어지는데, 보통 손목이나 팔꿈치의 앞이나 무릎의 뒤에 나타난다.

아토피 피부염의 급성 병소에서는 혈청 면역글로불린(immunoglobulin) E가 유의하게 증가하고, 인터루킨[interleukin(IL)-4] 같은 T 헬퍼(helper) 2 사이토카인(cytokines) [Th2]를 발현하는 세포수가 증가한다.

현재 대기, 수질 등의 환경오염으로 인하여 아토피 피부염은 남녀노소를 가리지 않고 발생 빈도가 증가하고 있어 모든 연령층을 대상으로 하는

질병으로 인식되고 있으나, 부작용이 없는 안전한 치료법이 개발되어 있지 않다.

본 발명의 아토피 피부염 억제 조성물의 한 성분인 꾸지뽕은 한국, 중국 및 일본에서 향양, 향염증, 위염 및 간 손상에 사용되는 생약이다.

꾸지뽕에는 β -시토스테롤(sitosterol), β -시토스테롤 글루코사이드(sitosterol glucoside), 아르토카페신(artocapesin), 노르아르토카페신(norartocapesin), 5-O-메틸제니스테인(methylgenistein), 파이토알렉신즈(phytoalexins) 등이 함유되어 있다.

본 발명의 아토피 피부염 억제 조성물의 다른 한 성분인 동과는 박과(Cucurbitaceae)에 속하는 베닌카사 히스피다(*Benincasa hispida*)의 열매로 본초강목(本草綱目)에 의하면 해독, 노화억제, 열독(熱毒)과 염증 제거 등의 효능이 있다고 알려져 있다.

【발명의 내용】

【해결하고자 하는 과제】

본 발명은 아토피 피부염 억제 조성물의 제공을 목적으로 한다.

【과제 해결 수단】

본 발명은 꾸지뽕잎 75~95중량% 및 동과 5~25중량%로 이루어진 것을 특징으로 하는 꾸지뽕잎과 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물을 제공하고자 한다.

【효과】

본 발명의 꾸지뽕잎과 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물을 이용하여 어린이, 성인에게서 발생하는 아토피 피부염의 발병을 억제할 수 있어 아토피 피부염 환자의 아토피를 감소시켜 아토피 피부염 환자의 고통 경감에 기여할 수 있다.

【발명의 실시를 위한 구체적인 내용】

본 발명은 아토피 피부염 억제 조성물을 나타낸다.

본 발명은 꾸지뽕잎을 재료로 하는 아토피 피부염 억제 조성물을 나타낸다.

본 발명은 동과를 재료로 하는 아토피 피부염 억제 조성물을 나타낸다.

본 발명은 꾸지뽕잎 및 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물을 나타낸다.

본 발명은 꾸지뽕잎 75~95중량% 및 동과 5~25중량%로 이루어진 것을 특징으로 하는 꾸지뽕잎과 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물을 나타낸다.

본 발명의 아토피 피부염 억제 조성물은 꾸지뽕잎 100중량부에 대하여 녹두, 포공영, 백작약, 형개, 죽엽, 사상자, 감초의 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 첨가제 5~10중량부를 추가로 더 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물을 나타낸다.

본 발명의 아토피 피부염 억제 조성물은 동과 100중량부에 대하여 녹두, 포공영, 백작약, 형개, 죽엽, 사상자, 감초의 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 첨가제 5~10중량부를 추가로 더 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물을 나타낸다.

본 발명의 아토피 피부염 억제 조성물은 꾸지뽕잎 및 동과로 이루어진 혼합물 100중량부에 대하여 녹두, 포공영, 백작약, 형개, 죽엽, 사상자, 감초의 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 첨가제 5~10중량부를 추가하여 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물을 나타낸다.

본 발명의 꾸지뽕잎을 재료로 하는 아토피 피부염 억제 조성물은 경구형 제형, 피부외용제 제형의 군으로부터 선택된 어느 하나의 제형화 될 수 있다.

본 발명의 동과를 재료로 하는 아토피 피부염 억제 조성물은 경구형 제형, 피부외용제 제형의 군으로부터 선택된 어느 하나의 제형화 될 수 있다.

본 발명의 꾸지뽕잎 및 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물은 경구형 제형, 피부외용제 제형의 군으로부터 선택된 어느 하나의 제형화 될 수 있다.

상기에서 아토피 피부염 억제 조성물은 고상 및/또는 액상의 경구형 제형으로 형상화 될 수 있다.

상기에서 아토피 피부염 억제 조성물은 꾸지뽕잎, 동과의 군으로부터 선택된 어느 하나 이상을 분말화하여 이러한 분말로부터 산제(powder), 환(丸), 캡슐(capsule), 펠릿(pellet), 정제(tablet)의 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 고상 경구형 제형으로 형상화 할 수 있다.

상기에서 아토피 피부염 억제 조성물은 꾸지뽕잎, 동과의 군으로부터 선택된 어느 하나 이상을 분말화하여 이러한 분말과 부형제를 첨가하여 산제, 환, 캡슐, 펠릿, 정제의 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 고상 경구형 제형으로 형상화 할 수 있다. 이때 부형제는 산제, 환, 캡슐, 펠릿, 정제의 군으로부터 선택된 어느 하나 이상으로 제형화할 때 본 발명에서 이러한 부형제에 대한 내용이 핵심적인 것이 아니며, 상기 제형을 제조시 통상적으

로 사용하는 것을 당업자가 적의 선택하여 사용할 수 있으면 족하므로 이에 대한 자세한 내용은 생략하기로 한다.

상기에서 아토피 피부염 억제 조성물은 꾸지뽕잎 열수 추출액, 꾸지뽕잎 유기용매 추출액의 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 액상 경구형 제형으로 형상화 할 수 있다.

상기에서 아토피 피부염 억제 조성물은 동과 열수 추출액, 동과 유기용매 추출액의 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 액상 경구형 제형으로 형상화 할 수 있다.

상기에서 아토피 피부염 억제 조성물은 꾸지뽕잎 열수 추출액, 꾸지뽕잎 유기용매 추출액의 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 꾸지뽕잎 추출액과 동과 열수 추출액, 동과 유기용매 추출액의 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 동과 추출액이 혼합된 혼합액의 액상 경구형 제형으로 형상화 할 수 있다. 이때 바람직하게는 꾸지뽕잎 열수 추출액과 동과 열수 추출액을 혼합하고, 꾸지뽕잎 유기용매 추출액과 동과 유기용매 추출액을 혼합하는 것과 같이 열수 추출액은 열수 추출액끼리 혼합하고, 유기용매 추출액은 유기용매 추출액끼리 혼합하는 것이 좋다.

상기에서 꾸지뽕잎 열수 추출액은 꾸지뽕잎을 꾸지뽕잎 중량 대비 3~10배량의 정제수에 첨가하여 80~100℃에서 최초 정제수의 부피 대비 10~40%가 되도록 추출한 다음 추출액을 여과하고 여과된 추출액의 농도가 10~70브릭스(brix)가 되도록 농축된 추출액을 사용할 수 있다.

상기에서 동과 열수 추출액은 동과를 동과 중량 대비 3~10배량의 정제수에 첨가하여 80~100℃에서 최초 정제수의 부피 대비 10~40%가 되도록 추출한 다음 추출액을 여과하고 여과된 추출액의 농도가 10~70브릭스(brix)가 되도록 농축된 추출액을 사용할 수 있다.

상기에서 꾸지뽕잎 유기용매 추출액은 꾸지뽕잎을 꾸지뽕잎 중량 대

비 3~5배량의 유기용매에 첨가하고 60~70℃에서 6시간~48시간 동안 추출한 다음 상기 유기용매를 제거하고 추출액을 여과한 후 추출액의 농도가 10~80브릭스(brix)가 되도록 농축한 추출액을 사용할 수 있다.

상기에서 동과 유기용매 추출액은 동과를 동과 중량 대비 3~5배량의 유기용매에 첨가하고 60~70℃에서 6시간~48시간 동안 추출한 다음 상기 유기용매를 제거하고 추출액을 여과한 후 추출액의 농도가 10~80브릭스(brix)가 되도록 농축한 추출액을 사용할 수 있다.

상기에서 꾸지뽕잎 유기용매 추출액, 동과 유기용매 추출액을 얻을 때 사용하는 유기용매로 탄소수가 2개 내지 7개인 알코올 용매를 사용할 수 있다.

상기에서 꾸지뽕잎 유기용매 추출액, 동과 유기용매 추출액을 얻을 때 사용하는 유기용매로 에탄올을 사용할 수 있으며, 이때 70~95% 농도의 에탄올을 사용할 수 있다.

상기에서 아토피 피부염 억제 조성물은 꾸지뽕잎, 동과의 균으로부터 선택된 어느 하나 이상을 분말화하여 이러한 분말을 피부외용제를 제조하기 위한 부형제와 혼합하여 연고, 반연고 상태의 피부외용제 제형으로 형성할 수 있다. 이때 본 발명에서 피부외용제를 제조하기 위한 부형제에 대한 내용이 핵심적인 것이 아니며, 상기 피부외용제를 제조하기 위한 부형제는 통상적으로 피부외용제 제조시 사용하는 것을 당업자가 적의 선택하여 사용할 수 있으면 족하므로 이에 대한 자세한 내용은 생략하기로 한다.

본 발명의 아토피 피부염 억제 조성물은 상기에서 언급한 것처럼 아토피 피부염 억제 효과를 보다 더 향상시키기 위해 녹두, 포공영, 백작약, 형개, 죽엽, 사상자, 감초 중에서 선택된 어느 하나 이상의 첨가제를 추가로 더 포함할 수 있으며, 이때 첨가제는 아토피 피부염 억제 조성물의 제형에 따라 적절한 형태로 사용될 수 있다. 일례로 아토피 피부염 억제 조성물이

분말 재료를 이용하여 산제, 환, 캡슐, 펠릿, 정제의 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 고상 경구형 제형으로 형성화될 때 상기 첨가제 또한 분말화한 분말을 이용하여 산제, 환, 캡슐, 펠릿, 정제의 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 고상 경구형 제형으로 형성화될 수 있다. 액상의 경구형 제형 및 피부외용제의 제형 또한 마찬가지이다.

본 발명의 꾸지뽕잎과 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물에 대해 다양한 조건에 의해 조사한바, 본 발명의 목적을 달성하기 위해서는 상기에서 언급한 조건에 의해 꾸지뽕잎과 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물을 제공하는 것이 바람직하다.

이하 본 발명의 내용을 실시예 및 시험예를 통하여 구체적으로 설명한다. 그러나, 이들은 본 발명을 보다 상세하게 설명하기 위한 것으로 본 발명의 권리범위가 이들에 의해 한정되는 것은 아니다.

<제조예 1> 꾸지뽕잎 열수 추출액 제조

꾸지뽕잎에 꾸지뽕잎 중량 대비 5배량의 정제수를 첨가하고, 100℃에서 최초 정제수의 부피 대비 10%가 되도록 추출하여, 꾸지뽕잎 추출물을 얻은 후 이를 여과하였다.

상기 여과된 꾸지뽕잎 추출물을 60 Brix가 되도록 농축하여 꾸지뽕잎 열수 추출액을 제조하였다.

<제조예 2> 동과 열수 추출액 제조

세절된 동과에 동과 중량 대비 5배량의 정제수를 첨가하고, 100℃에서 최초 정제수의 부피 대비 10%가 되도록 추출하여, 동과 추출물을 얻은 후 이를 여과하였다.

상기 여과된 동과 추출물을 60 Brix가 되도록 농축하여 동과 열수 추

출액을 제조하였다.

<제조예 3> 꾸지뽕잎 에탄올 추출액 제조

꾸지뽕잎에 꾸지뽕잎 중량 대비 4배량의 95% 농도의 에탄올을 첨가하고, 60℃에서 24시간 동안 추출한 다음 여과하였다.

상기 여과된 꾸지뽕잎 추출물을 60 Brix가 되도록 농축하여 꾸지뽕잎 에탄올 추출액을 제조하였다.

<제조예 4> 동과 에탄올 추출액 제조

세절된 동과에 동과 중량 대비 4배량의 95% 농도의 에탄올을 첨가하고, 60℃에서 24시간 동안 추출한 다음 여과하였다.

상기 여과된 동과 추출액을 60 Brix가 되도록 농축하여 동과 에탄올 추출액을 제조하였다.

<실시에 1>

상기 제조예 1에서 얻은 고형분 60 Brix 꾸지뽕잎 열수 추출액 95중량%와 상기 제조예 2에서 얻은 60 Brix 동과 열수 추출액 5중량%를 혼합하여 아토피 피부염 억제 조성물을 제조하였다.

<실시에 2>

상기 제조예 1에서 얻은 고형분 60 Brix 꾸지뽕잎 열수 추출액 85중량%와 상기 제조예 2에서 얻은 60 Brix 동과 열수 추출액 15중량%를 혼합하여 아토피 피부염 억제 조성물을 제조하였다.

<실시예 3>

상기 제조예 1에서 얻은 고형분 60 Brix 꾸지뽕잎 열수 추출액 75중량%와 상기 제조예 2에서 얻은 60 Brix 동과 열수 추출액 25중량%를 혼합하여 아토피 피부염 억제 조성물을 제조하였다.

<실시예 4>

상기 제조예 1에서 얻은 고형분 60 Brix 꾸지뽕잎 열수 추출액 85중량%와 상기 제조예 2에서 얻은 60 Brix 동과 열수 추출액 15중량%를 혼합하여 꾸지뽕잎 추출액 및 동과 추출액 혼합액을 얻었다.

상기의 꾸지뽕잎 열수 추출액 및 동과 열수 추출액의 혼합액 100중량부에 첨가제로 녹두 열수 추출액 1중량부, 포공영 열수 추출액 1중량부, 백작약 열수 추출액 1중량부, 형개 열수 추출액 1중량부, 죽엽 열수 추출액 1중량부, 사상자 열수 추출액 1중량부, 감초 열수 추출액 1중량부의 첨가제 7중량부를 첨가하여 꾸지뽕잎 열수 추출액, 동과 열수 추출액 및 첨가제 열수 추출액을 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물을 제조하였다.

상기에서 녹두 열수 추출액, 포공영 열수 추출액, 백작약 열수 추출액, 형개 열수 추출액, 죽엽 열수 추출액, 사상자 열수 추출액, 감초 열수 추출액은 각각의 재료를 이용하여 제조예 1의 꾸지뽕잎 열수 추출액을 얻는 방법을 이용하여 제조한 것을 사용하였다

<실시예 5>

상기 제조예 3에서 얻은 고형분 60 Brix 꾸지뽕잎 에탄올 추출액 95중량%와 상기 제조예 4에서 얻은 60 Brix 동과 에탄올 추출액 5중량%를 혼합하여 아토피 피부염 억제 조성물을 제조하였다.

<실시예 6>

상기 제조예 3에서 얻은 고형분 60 Brix 꾸지뽕잎 에탄올 추출액 85 중량%와 상기 제조예 4에서 얻은 60 Brix 동과 에탄올 추출액 15중량%를 혼합하여 아토피 피부염 억제 조성물을 제조하였다.

<실시예 7>

상기 제조예 3에서 얻은 고형분 60 Brix 꾸지뽕잎 열수 추출액 75중량%와 상기 제조예 4에서 얻은 60 Brix 동과 에탄올 추출액 25중량%를 혼합하여 아토피 피부염 억제 조성물을 제조하였다.

<실시예 8>

상기 제조예 3에서 얻은 고형분 60 Brix 꾸지뽕잎 에탄올 추출액 85 중량%와 상기 제조예 4에서 얻은 60 Brix 동과 에탄올 추출액 15중량%를 혼합하여 꾸지뽕잎 추출액 및 동과 추출액 혼합액을 얻었다.

상기의 꾸지뽕잎 에탄올 추출액 및 동과 에탄올 추출액의 혼합액 100 중량부에 첨가제로 녹두 에탄올 추출액 1중량부, 포공영 에탄올 추출액 1중량부, 백작약 에탄올 추출액 1중량부, 형개 에탄올 추출액 1중량부, 죽엽 에탄올 추출액 1중량부, 사상자 에탄올 추출액 1중량부, 감초 에탄올 추출액 1중량부의 첨가제 7중량부를 첨가하여 꾸지뽕잎 에탄올 추출액, 동과 에탄올 추출액 및 첨가제 에탄올 추출액을 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물을 제조하였다.

상기에서 녹두 에탄올 추출액, 포공영 에탄올 추출액, 백작약 에탄올 추출액, 형개 에탄올 추출액, 죽엽 에탄올 추출액, 사상자 에탄올 추출액, 감초 에탄올 추출액은 각각의 재료를 이용하여 제조예 3의 꾸지뽕잎 에탄올 추출액을 얻는 방법을 이용하여 제조한 것을 사용하였다

<시험예 1> NC/Nga 생쥐에서 아토피 피부염 (atopic dermatitis, AD) 유사 피부 병변(lesions) 발달 억제 시험

(1) 실험방법

5주령의 웅성 NC/Nga 웅성 생쥐를 중앙실험동물(주)(서울, 한국)에서 구입하여 플라스틱 케이지(plastic cage)에 한 마리씩 넣어 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도 $55\pm 5\%$ 및 점등 7:00 ~ 19:00hr 조건에서 사육하였다. M07 사료 [(주)피드랩, 하남]를 급여하였으며, 물은 임의로 먹게 하였다.

7주령 NC/Nga 생쥐의 등과 머리 피부를 털을 깎고, 아세톤/에탄올 (1:4 부피비) 용매에 녹인 0.8% 피크릴 클로라이드[picryl chloride, PiCl, 1-클로로-2,4,6-트리니트로벤젠(1-chloro-2,4,6-trinitrobenzene)] 용액 $150\mu\text{l}$ 로 감작(sensitization)하였다. 그리고 올리브유에 녹인 5% PiCl $100\mu\text{l}$ 로 매주 1회, 9주간(7에서 70일) 챌린지(challenge) 하였다. 꾸지뽕잎 추출물과 동과 추출물을 포함하는 아토피 피부염 억제용 배합물은 6주간(29에서 70일) 매일 경구투여되거나, PiCl 처리 30분전에 도포되었다.

피부염 상태는 5가지 증상[가려움, 부종, 출혈, 찰상/침식 (excoriation/erosion) 및 낙설(scaling)/건조]에 대하여 0(없음), 1(경증), 2(보통) 및 3(중증)으로 점수화하여 총점 15으로 채점하였다.

측정치는 던칸다중범위검정(Duncan's multiple range test)으로 분석되었으며 $M\pm\text{SEM}$ 으로 표시되었다(SAS Institute, Inc.: SAS User's Guide: Statistics, 5th ed. Cary, NC, 1985).

(2) 실험결과

AD 유사 피부 병변이 유도된 NC/Nga 생쥐에 각각 생리식염수를 투여한 대조군, 제조에 1의 꾸지뽕잎 추출액을 투여한 군, 제조에 2의 동과 추출액을 투여한 군, 실시예 1 내지 실시예 3의 꾸지뽕잎 추출물과 동과 추출물의 배합비에 따른 투여군에 대한 6주(six week) 후의 아토피 피부염 억제 활성을 측정하고 그 결과를 아래의 표 1에 나타내었다. 각 시료의 1일 경구투여량은 150mg/kg 체중이었다.

표 1. AD 유사 피부 병변이 유도된 NC/Nga 생쥐에서 꾸지뽕잎 추출물과 동과 추출물의 배합비에 따른 아토피 피부염 억제 활성¹

군 \ 투여기간(주)	0주(week)	3주	6주
대조군(생리식염수)	4.1±0.3	9.3±0.5 ^d	13.6±0.3 ^e
꾸지뽕잎 추출액 투여군	3.9±0.4	6.7±0.3 ^c	9.8±0.4 ^c
동과 추출액 투여군	4.0±0.4	7.4±0.4 ^c	11.0±0.3 ^d
실시예 1 투여군	3.9±0.5	5.5±0.3 ^b	6.9±0.2 ^b
실시예 2 투여군	4.0±0.3	3.6±0.3 ^a	3.1±0.4 ^a
실시예 3 투여군	4.1±0.3	7.0±0.4 ^c	9.1±0.3 ^c

¹피부상해점수. 평균치±SEM, 1군당 10마리. 같은 열(column)에서 서로 다른 윗첨자를 갖는 값들은 유의차가 있음($P<0.05$).

상기 표 1에서 시료투여 3주후 생리식염수가 투여된 대조군에 비하여 모든 시료군의 피부상해 점수가 유의하게 감소하여 시료의 아토피 피부염 억제 효과를 확인하였다. 꾸지뽕잎 추출액과 동과 추출액을 각각 단독으로 투여한 군에 비하여 꾸지뽕잎 추출액과 동과 추출액의 혼합액을 투여한 군들의

점수가 많이 감소하여 꾸지뽕잎 추출액과 동과 추출액의 혼합에 의하여 아토피 피부염 억제 효과가 상승함을 확인하였다. 특히 실시예 2 투여군의 점수가 가장 낮아서 꾸지뽕잎 추출액과 동과 추출액의 혼합 배합비가 85:15(wt%)일 때 아토피 피부염 억제 활성이 가장 우수하였다.

하기 표 2는 AD 유사 피부 병변이 유도된 NC/Nga 생쥐에 실시예 2에서 얻은 꾸지뽕잎 추출물과 동과 추출물이 85:15(중량%)으로 혼합된 혼합액의 경구투여량에 따른 아토피 피부염 억제 활성을 나타낸 것이다.

표 2. AD 유사 피부 병변이 유도된 NC/Nga 생쥐에서 꾸지뽕잎 추출물과 동과 추출물이 85:15(중량%)으로 혼합된 혼합액의 경구투여량에 따른 아토피 피부염 억제 활성¹

투여량(mg/kg/일)	투여기간(주)	0주(week)	5주
	대조군(생리식염수 160 투여군)		4.1±0.3
실시예 2 조성물 140 투여군		3.9±0.5	4.7±0.2 ^b
실시예 2 조성물 160 투여군		4.0±0.3	3.3±0.4 ^a
실시예 2 조성물 180 투여군		4.1±0.3	3.2±0.3 ^a

¹피부상해점수. 평균치±SEM, 1군당 10마리. 같은 열(column)에서 서로 다른 윗첨자를 갖는 값들은 유의차가 있음($P<0.05$).

상기 표 2에서 실시예 2에서 꾸지뽕잎 추출액과 동과 추출액이 85:15(wt%)으로 혼합된 혼합액이 하루 160mg/kg 투여된 군과 180mg/kg이 투여된 군은 5주 후에 140mg/kg 투여된 군에 비하여 피부상해점수가 유의하게 감소하였으나, 180mg/kg이 투여된 군은 160mg/kg이 투여된 군에 비하여 점수가 감소하지 않았다. 따라서 본 실험에서 꾸지뽕잎 추출물과 동과 추출물

85:15 배합물의 최적 투여량은 160mg/kg/일 정도라고 판단된다.

표 3은 AD 유사 피부 병변이 유도된 NC/Nga 생쥐에 실시예 2에서 얻은 꾸지뽕잎 추출물과 동과 추출물이 85:15(중량%)으로 혼합된 혼합액의 도포에 따른 아토피 피부염 억제 활성을 나타낸 것이다.

표 3. AD 유사 피부 병변이 유도된 NC/Nga 생쥐에서 꾸지뽕잎 추출물과 동과 추출물 85:15 배합물의 도포에 따른 아토피 피부염 억제 활성¹

처리군	도포기간(주)	
	0주(week)	5주
대조군(생리식염수 도포)	4.1±0.3	12.6±0.4
실시예 2 도포군	4.0±0.4	6.3±0.4*

¹피부상해점수. 평균치±SEM, 1군당 10마리.

*같은 열(column)에서 대조군에 비하여 유의차가 있음($P<0.05$).

실시예 2에서 얻은 꾸지뽕잎 추출물과 동과 추출물이 85:15(중량%)으로 혼합된 혼합액을 도포한 군이 대조군에 비하여 피부상해점수가 50% 감소하였다. 따라서 본 배합물이 경구투여는 물론 환부 도포에 의해서도 효력을 발휘함이 입증되었다.

<시험예 2> 사람의 아토피 피부염에 대한 꾸지뽕잎 추출물과 동과 추출물 85:15 배합물의 억제작용 시험

아토피 피부염 증상을 보이는 사람 30인을 선발하여 5주간 실시예 2에서 얻은 꾸지뽕잎 추출물과 동과 추출물이 85:15(중량%)으로 혼합된 혼합액 5g을 1일 2회 섭취시키면서 환부에 배합액을 도포한 실험군과, 상기 실험군 대신 실시예 2에서 얻은 꾸지뽕잎 추출물과 동과 추출물의 혼합물과 유사

한 색상과 맛을 지니도록 처리한 음용수를 실험군과 동일한 조건으로 섭취 및 도포한 위약(偽藥)군의 아토피 피부염 억제활성을 조사하였다.

아토피 피부염은 3항목 증상 점수(three-item severity score, TIS score)로 측정하였다. TIS score는 홍반(erythema), 부종 및 찰상(excoriations)의 3증상에 대하여 각각 0~3점 (0=없음, 1=경증, 2=보통, 3=중증)을 주고 합산하여 0~9점 범위에서 평가하고, 하기 표 4에 시험 결과를 나타내었다.

하기 표 4에서처럼 실시예 2에서 얻은 꾸지뽕잎 추출물과 동과 추출물이 85:15(중량%)으로 혼합된 혼합액을 아토피 피부염을 지닌 사람에게 5주간 섭취시키고 환부에 도포시킨 결과 TIS 점수가 위약군에 비하여 39% 감소하고 섭취전에 비하여 41% 감소하여, AD 유사 피부 병변이 유도된 NC/Nga 생쥐에서와 같이 시료의 아토피 피부염 억제 효과가 인정되었다.

표 4. 꾸지뽕잎 추출물과 동과 추출물 85:15 배합물의 사람 아토피 피부염에 대한 억제 활성¹

처리군	섭취기간(주)	0주 (week)	5주
	위약군		5.7± 0.3
실시예 2 섭취 실험군		5.6± 0.4	3.3± 0.5 [#]

¹TIS score. 평균치±SEM, 1군당 15인.

*같은 열(column)에서 위약군에 비하여 유의차가 있음($P<0.05$).

[#]같은 줄(row)에서 섭취전에 비하여 유의차가 있음($P<0.05$).

상술한 바와 같이, 본 발명의 바람직한 실시예를 참조하여 설명하였지만 해당 기술 분야의 숙련된 당업자라면 하기의 특허청구범위에 기재된 본 발명의 사상 및 영역으로부터 벗어나지 않는 범위 내에서 본 발명을 다양하

게 수정 및 변경시킬 수 있음을 이해할 수 있을 것이다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

꾸지뽕잎 75~95중량% 및 동과 5~25중량%로 이루어진 것을 특징으로 하는 꾸지뽕잎과 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물.

【청구항 2】

제1항에 있어서, 꾸지뽕잎 및 동과로 이루어진 혼합물 100중량부에 대하여 녹두, 포공영, 백작약, 형개, 죽엽, 사상자, 감초의 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 첨가제 5~10중량부를 추가로 더 포함하는 것을 특징으로 하는 꾸지뽕잎과 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물.

【청구항 3】

제1항에 있어서, 상기 아토피 피부염 억제 조성물은 경구형 제형, 피부외용제 제형의 군으로부터 선택된 어느 하나의 제형인 것을 특징으로 하는 꾸지뽕잎과 동과를 포함하는 아토피 피부염 억제 조성물.

제9절 꾸지뽕 열매의 숙취해소 효과

현재 부작용이 없이 숙취를 해소하거나 음주로 인한 신체의 손상을 억제할 수 있는 물질의 개발이 요구되고 있다.

음주는 유리기(free radicals)의 생성을 증가시킨다 [Lancet 2, 291 (1985)]. 유리기는 음주로 인한 숙취 증상 [Alcohol 19(2), 119 (1999); Annal Intern Med 132(11), 897 (2000)] 및 간 지질의 과산화에 의한 지방간 등 여러 질병을 일으킨다고 알려져 있다 [Fed Proc 26, 1436 (1967)]. 비타민 E와 같은 항산화제나 SOD와 같은 항산화 효소는 유리기의 발생을 억제한다.

꾸지뽕 열매는 본초학에서 열을 내리고 血分에서 熱邪를 제거하며 絡脈을 잘 통하게 한다고 알려져 있다 (3).

본 연구에서는 꾸지뽕 열매의 밀환제가 음주인의 숙취증상 및 생쥐의 아세트알데하이드(acetaldehyde) 중독(intoxication)에 미치는 영향을 조사하여, 꾸지뽕 열매의 밀환제가 숙취해소에 사용될 수 있음을 입증하였다.

음주 실험전 꾸지뽕 열매의 밀환제를 1일 12 g씩 10일간 섭취시켰다. 소주 381 ml [알코올(alcohol) 80 g 포함]을 섭취시킨 후 아래와 같이 15 항목에 대하여 본인이 체감하게 하였다.

No.	숙취증상	5	4	3	2	1
1	과도한 갈증					
2	졸음					
3	두통					
4	어지러움					
5	구토					
6	무력감, 기운 없음					
7	복통					
8	설사					
9	집중곤란					
10	평소보다 자극에 민감 (눈부심, 소음)					
11	수면곤란					
12	평소보다 땀이 많이남 (진땀)					
13	우울증					
14	기억단절					
15	기타증상 ()					

각 점수에 대한 기준

- 5 : 증상이 심해서 생활에 많은 지장을 받는다 / 매우 심함
- 4 : 생활에 다소 지장을 받는다 / 대체로 심함
- 3 : 생활에 지장은 없으나 평소의 신체상태는 아니다 / 약간 심함
- 2 : 생활에 거의 지장이 없다 / 매우 약함
- 1 : 생활에 전혀 지장이 없다 / 거의 없음

표 1은 꾸지뽕 열매의 밀환제가 음주후 숙취증상 점수 합계에 미치는 영향을 나타낸 것이다.

표 1. 꾸지뽕 열매의 밀환제가 음주후 숙취증상 점수 합계에 미치는 영향¹

음주후 경과시간(hr) 군	1	4	15
위약	21.8±2.8	22.6±2.9	23.9±3.5
꾸지뽕 열매의 밀환제	16.7±2.0*	15.2±2.1*	13.1±2.7*

¹평균치±SEM, n=15.

**P*<0.05, 위약군과 비교.

꾸지뽕 열매의 밀환제를 섭취한 음주인군의 점수가 위약군보다 낮아서 꾸지뽕 열매의 밀환제가 숙취증상을 억제하였다.

6주령의 웅성 ICR 생쥐에게 꾸지뽕 열매의 밀환제를 하루 72 mg씩 20일간 경구투여한 후 아세트알데하이드[와코 퓨어 케미칼 (Wako Pure Chemical), 오사카, 일본] 500 mg/kg을 복강 주사하고, 5일후 생존률을 조사하였다.

표 2는 꾸지뽕 열매의 밀환제가 생쥐의 아세트알데하이드 중독에 미치는 영향을 나타낸 것이다.

표 2. 꾸지뽕 열매의 밀환제가 생쥐의 아세트알데하이드 중독에 미치는 영향¹

군	생존률(%)	생존기간(일)
위약	0	0.7±0.3
꾸지뽕 열매의 밀환제	50	2.9±0.5*

¹평균치±SEM, n=10.

**P*<0.05, 위약군과 비교.

위약군의 생존률이 0 %임에 비하여 꾸지뽕 열매 밀환제 군의 생존률은 50 %로 생존기간이 연장되었다. 알코올은 알코올 다하이드로제네이스 (alcohol dehydrogenase)에 의하여 아세트알데하이드로 변화한다. 높은 농도의 아세트알데하이드는 맥박을 빠르게 하고, 발한, 피부 홍조(flushing), 구역(nausea) 및 구토를 일으키는 독성을 나타낸다. 따라서 아세트알데하이드가 숙취의 주요 원인으로 알려져 있다 [Alcohol Health & Res World 22(1), 54 (1998)]. 그러므로 꾸지뽕 열매의 밀환제가 아세트알데하이드의 독성을 감소시켜 숙취를 억제한다고 판단된다.

제10절 꾸지뽕잎을 활용한 비만억제용 곡물 피복(被覆)액

국민소득이 높아짐에 따라 에너지 함량이 높은 가공식품을 많이 섭취하고 운동량이 적어지면서 비만증이 국민건강을 위협하는 요인이 되고 있다. 비만증은 거북하고 아름답지 않은 외모로 보는데 있어 좋지 않은 이미지를 주고 활동에도 불편을 줄 뿐 아니라, 비만인은 정상인에 비하여 당뇨병, 동맥경화증, 고혈압증, 심장병, 간장병, 담석증, 통풍, 신장병 등의 발생률과 수술시 위험성이 높아 대체로 단명하다고 보고되고 있다. 따라서 비만증은 중년을 넘어서는 사람에게서는 생명에 관한 문제이며, 젊은 여성에게는 특히 미용상의 이유로 심각하게 고려되고 있다.

현재 비만증 치료제로서 식욕 억제제, 체열 발생제, 이뇨제 등이 사용되고 있으며 이 중 가장 많이 사용되는 비만 치료제는 식욕 억제제로서 미국에서 한 해 10천만불의 시장을 형성하고 있다. 그러나 비만 치료용 식욕 억제제는 혈압 상승, 의존성, 설사, 변비, 불면, 불안 등의 부작용을 나타내므로 비만증을 억제하기 위하여 오랜 세월 동안 안전성과 생리기능이 검증된 여러 식품소재의 이용에 대한 관심이 높아지고 있다. 현재 비만인을 위한 건강식품으로 식이섬유, 생약재 및 여러 식품소재를 함유하는 제품들이 개발되어 있으나, 식사량을 줄이고 이 제품들을 섭취할 경우 여러 영양소의 부족으로 인한 부작용으로 정상적인 생활이 어렵고, 복용을 중단하면 빠르게 다시 비만해지는 것으로 알려져 있다 (L. U. Pizzorno et al., Natural Medicine Instructions for Patients, Churchill Livingstone, 2002).

본 연구에서 개발된 비만억제용 곡물 피복액 조성물의 원료인 꾸지뽕

은 한국, 중국 및 일본에서 항암, 항염증, 위염 및 간 손상에 사용되는 생약이다.

꾸지뽕에는 β -시토스테롤(sitosterol), β -시토스테롤 글루코사이드(sitosterol glucoside), 아르토키페신(artocapelin), 노르아르토키페신(norartocapelin), 5-O-메틸제니스테인(methylgenistein), 파이토알렉신즈(phytoalexins) 등이 함유되어 있다.

비만억제용 곡물 피복에 사용되는 꾸지뽕잎 열수 추출액을 제조하기 위하여 꾸지뽕잎에 꾸지뽕잎 중량 대비 5배량의 정제수를 첨가하고 100°C에서 추출한 후 추출액을 여과하여, 여과된 추출액의 농도가 7 브릭스(Brix)가 되도록 농축하였다.

<시험 1> 비만억제용 곡물 피복액 조성물 피복 곡물의 비만억제 효과 동물시험

(1) 실험방법

① 시료제조

위와 같이 제조된 꾸지뽕잎 열수 추출액을 분무형 피복장치를 이용하여 곡물의 표면에 1중량% 피복하였다.

② 동물시험

본 실험에 사용된 동물은 웅성 스프래그-다울리(Sprague-Dawley)계 흰쥐였다. 4주령의 쥐를 구입하여 1주간 시판 펠릿(pellet) 사료를 급여한 뒤 10마리씩 군을 나누었다. 8주간 표 1과 같은 시험사료를 급여한 후 심장에서 혈액을 채취하고, 간, 신장 지방

조직(perirenal fat pad) 및 정소상체 지방조직(epididymal fat pad)을 잘라내어 무게를 측정하였다.

측정치는 던칸다중범위검정(Duncan's multiple range test)으로 분석되었으며 M±SEM으로 표시되었다(SAS Institute, Inc.: SAS User's Guide: Statistics, 5th ed. Cary, NC, 1985).

표 1. 시험사료의 조성 (%)

성분	군		
	정상 대조군	비만 대조군	시험군
곡물	60.0	50.0	-
카제인(casein)	20.0	20.0	20.0
미네랄 혼합물 ¹	3.5	3.5	3.5
비타민 혼합물 ¹	1.0	1.0	1.0
DL-메치오닌	0.3	0.3	0.3
콜린 바이타트레이트(bitartrate)	0.2	0.2	0.2
돈지(lard)	7.0	17.0	17.0
옥수수유	3.0	3.0	3.0
셀룰로오스 분말	5.0	5.0	5.0
피복 곡물	-	-	50.0

¹AIN-76™

(2) 화학분석

간의 중성지질을 분석하기 위하여 간의 지질을 추출한 뒤 효소법으로 중성지질을 정량하였다. 혈청의 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 및 포도당 함량은 드라이 케미스트리 시스템(dry chemistry system, 일본 Daiichi사 제품)을 이용하여 분석하였다.

(3) 실험결과

꾸지뽕잎 열수 추출액이 피복된 곡물의 비만억제 기능 조사 결과를 표 2에 나타내었다. 비만 대조군에 비하여, 모든 피복 곡물 섭취군에서 백미군의 혈당농도를 제외한 모든 측정치가 감소하여 꾸지뽕잎 추출물 피복 곡물의 비만억제 효과가 인정되었다. 특히 꾸지뽕잎 추출물 피복 현미군의 비만억제 효과가 가장 우수하여, 모든 측정치가 다른 곡물군에 비하여 크고 유의하게 감소하였으며, 간의 중성지방 함량, 동맥경화 위험지수 및 혈당 농도는 정상 대조군과 같은 수준으로 감소하였다. 또한 꾸지뽕잎 추출물 피복 조군이 꾸지뽕잎 추출물 피복 백미군에 비하여 비만억제 효과가 우수하였다. 이상의 결과는 꾸지뽕잎 추출물 피복이 체중증가를 억제하여 비만증을 억제할 수 있을 뿐 아니라, 열량 섭취, 복부지방 축적, 동맥경화 위험지수 및 혈당농도를 감소시킬 수 있음을 입증하여, 비만증과 관련된 성인병인 지방간, 동맥경화, 그리고 당뇨병을 효율적으로 억제할 수 있음을 보여주고 있다.

표 2. 꾸지뽕잎 추출물 피복 곡물의 비만증 억제효과¹

군	체중증가 (g)	열량섭취 ² (kJ/일)	복부지방 (g)	간 중성지방 (mg/g)	동맥경화 위험지수 ³	혈당농도 (mg/dl)
정상 대조군	234±5 ^a	324±8 ^a	8.93±0.24 ^a	72.0±2.3 ^a	2.4±0.3 ^a	146±4 ^a
비만 대조군	300±4 ^d	423±18 ^c	13.18±0.31 ^d	92.5±5.4 ^c	3.6±0.3 ^c	167±5 ^c
백미	281±4 ^c	384±15 ^b	11.88±0.29 ^c	81.9±4.3 ^b	3.0±0.2 ^b	159±4 ^{bc}
현미	269±5 ^b	370±19 ^b	10.05±0.35 ^b	75.4±4.1 ^{ab}	2.4±0.2 ^a	151±2 ^a
조	268±5 ^b	362±18 ^b	11.05±0.30 ^c	80.3±3.7 ^b	2.5±0.2 ^a	158±2 ^b

¹평균치 ± SE(표준오차). 1군당 10마리. 같은 칼럼에서 서로 다른 위 첨자를 갖는 값들은 유의차가 있음 (P<0.05)

²도살전 5일간 측정

³(총 콜레스테롤 - HDL-콜레스테롤) / HDL-콜레스테롤

<시험 2> 비만억제효과 실험 (비만인 대상)

생체 전위 임피던스를 측정하여 체지방 함량이 30 % 이상인 성인 여성 30인을 선발하고 2군으로 나누어, 시험군에게 꾸지뽕잎 추출물이 피복된 현미와 조가 동량 혼합된 곡물을 30 % 섞은 백미 밥을 30일간 섭취시키고, 대조군에게는 피복되지 않은 곡물을 같은 방법으로 섭취시킨 뒤, 조사된 체형, 임상 및 생화학적 측정치를 표 4에 나타내었다.

표 4. 꾸지뽕잎 추출물 피복된 곡물의 비만억제 효과¹

측정치	대조군	시험군
체중 (kg)	66.3±2.1	62.4±2.0**
체지방 (%)	35.1±0.5	27.9±0.8**
허리 둘레 (inch)	33.5±1.0	31.0±0.9**
상박 둘레 (inch)	11.7±0.4	10.1±0.3**
엉덩이 둘레 (inch)	40.1±0.7	37.8±0.9**
수축기 혈압 (mmHg)	113±6	111±5
확장기 혈압 (mmHg)	75±4	76±3
공복시 혈당 (mg/dl)	85±8	77±3
혈액 트리글리세리드 (mg/dl)	142±19	144±18
혈액 총 콜레스테롤 (mg/dl)	179±12	167±10*
HDL-콜레스테롤 (mg/dl)	40±4	45±5
LDL-콜레스테롤 (mg/dl)	147±20	95±6*

¹평균치±S.E.

*p < 0.05, **p < 0.01

꾸지뽕잎 추출물피복 곡물을 섭취시킨 시험군이 피복되지 않은 곡물을 섭취시킨 대조군에 비하여 체중이 3.9 kg 감소하고 체지방 함량이 21 % 감소하였다. 또한 허리 둘레, 상박 둘레, 엉덩이 둘레, 혈당농도 및 혈청 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 농도가 섭취 전에 비하여 통계적으로 유의하게 감소하였다. 이러한 결과는 꾸지뽕잎 추출물이 피복된 곡물의 섭취가 사람의 비만증을 매우 효과적으로 억제함을

입증하는 것이다.

제4장 목표 달성도 및 관련분야에의 기여도

구분	연도	세부연구개발 목표	평가의 착안점 및 기준	달성도 (%)
1차 년도	2007	꾸지뽕나무 잎과 열매의 영양성분 및 생리활성 측정	꾸지뽕의 영양학 및 생리학적 우수성	100
		꾸지뽕나무 잎과 열매의 활성 성분 추출법 개발	꾸지뽕의 활성성분 추출 수율	100
		꾸지뽕나무 잎과 열매를 활용한 기능성 식품소재 개발	개발된 꾸지뽕 활용 기능성 식품소재의 상품성	100
		꾸지뽕나무 잎과 열매의 항산화 활성 검색	꾸지뽕의 항산화 활성	100
2차 년도	2008	꾸지뽕나무 잎과 열매의 가공법이 생리활성에 미치는 영향 조사	꾸지뽕 가공물의 생리학적 우수성	100
		꾸지뽕나무 잎과 열매의 가공법 개발	꾸지뽕 가공법의 산업성	100
		꾸지뽕나무 잎과 열매를 활용한 가공식품 개발	꾸지뽕 활용 가공식품의 상품성	100
		꾸지뽕나무 잎과 열매 추출물의 항산화 활성 감소 억제 기술 개발	꾸지뽕 추출물의 항산화 활성 감소 억제 기술의 효력	100
최종 평가		꾸지뽕나무 잎과 열매의 영양성분 및 생리활성 조사	꾸지뽕 잎과 열매의 영양학 및 생리학적 우수성	100
		꾸지뽕나무 잎과 열매의 생리활성을 활용한 가공식품 개발	꾸지뽕을 활용한 가공식품의 산업성	100

본 연구를 통하여 꾸지뽕을 활용한 고부가가치 상품 개발의 기반이 확립되었고, 따라서 꾸지뽕은 우리 농촌의 고소득 작물로 자리 잡을 것이다.

제5장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

* 피부보호 기능을 지닌 꾸지뽕 배합물 제조 기술이 평태산업(주)에 유상 기술이전 완료됨

* 석사 3인 교육

* 혈당과 노화억제...꾸지뽕 '주목'

농업인신문 2008년 09월 05일 (금) 13:49:39 최현식 기자

그 동안 민간요법에서 부인병과 이뇨, 진해, 자궁암, 자궁근종 등 각종 암과 당뇨병 및 신장기능 강화에 효능이 있는 것으로 알려진 꾸지뽕잎을 이용한 건강식품이 개발돼 향후 농가의 소득 작목으로 기대되고 있다.

한국식품연구원 기능성연구단 홍석산 박사팀은 강릉대학교 식품과학과 유병진 교수, (주)고성바이오팜과 함께 농림기술개발 연구과제로 강원도 고성산꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*) 잎의 생리활성을 이용하여 혈당조절과 노화억제에 효능이 있는 건강식품을 개발했다고 밝혔다. 꾸지뽕은 한국과 중국에서만 자생하는 낙엽 소교목이다.

강원도 고성군에서 처음으로 재배된 꾸지뽕 잎은 녹차잎, 일반뽕잎 및 국내 타지역에서 생산된 꾸지뽕 잎에 비하여 단백질, 식이섬유, 비타민 B1, 비타민 B2, 칼슘, 철, 칼륨, GABA 및 루틴과 같은 영양소 및 생리활성 물질의 함량이 높아서 우수한 건강식품 소재로서의 활용 가능성이 확인됐다.

특히 고성산 꾸지뽕잎과 열매의 생리활성을 시험관, 스트렙토조토신으로 유도된 당뇨쥐 및 D-갈락토스로 유도된 노화쥐 시험을 통하여 측정된 결과 높은 항산화, 혈당조절 및 노화억제 활성을 보였다.

현재 이 연구 결과는 특허 등록돼 꾸지뽕잎의 생리활성을 이용한 꾸지뽕잎

침출차 및 당뇨환자용 식품이 개발 중에 있다.

또한 꾸지뽕나무를 FTA에 대비한 농가 소득 작목으로 개발하기 위하여 꾸지뽕잎과 열매의 생리활성 연구 및 이의 산업화를 위한 다양한 분야의 연구가 진행 중이다.

한식연 홍석산 박사는 “고성산 꾸지뽕나무 잎과 열매의 다양한 생리활성에 관한 연구결과를 토대로 꾸지뽕나무의 기능성을 이용한 차, 엑기스, 환, 마스크팩, 비누, 샴푸, 국수류, 쌀 등 웰빙 기능성 식품을 고성군 특화상품으로 육성하여 고부가가치 산업으로 확대 할 계획”이라고 밝혔다.

* 강원 고성군 '꾸지뽕나무' 특화사업

"꾸지뽕나무를 아십니까." 강원 고성군이 당뇨병과 비만, 숙취해소, 노화억제 등에 뛰어난 약리기능을 가지고 있는 것으로 알려진 '꾸지뽕나무'를 재배 및 가공하는 것을 지역 특화사업으로 추진하고 있어 눈길을 끌고 있다.

28일 고성군에 따르면 2006년 토성면 인흥리 주민들이 영농조합법인을 설립해 산불 피해지와 주변지역 임야 9.2ha에 9만그루의 꾸지뽕나무를 심은 시범사업에 착수, 최근 잎과 열매 추출물을 가공한 시제품 생산에 들어갔으며 내년 상반기에 차와 진액 상품을 시장에 내놓을 계획이다.

일명 '긧가시나무'라고도 하는 꾸지뽕나무는 가지에 가시가 있고 3갈래로 갈라진 것과 가장자리가 밋밋하고 달걀 모양인 잎을 가진 뽕나무과의 나무로 한국과 일본, 중국에 많이 분포하며 잎과 열매에 다량의 황산화물질이 들어 있는 것이 확인되면서 기능성 식품 소재로 주목받고 있다.

민간요법에서도 꾸지뽕나무의 잎은 부스럼과 습진, 소염과 통증완화, 혈액순환 촉진, 폐결핵, 만성요통, 타박상 치료에 효과가 있으며 열매는 열을 내리게 하고 혈액의 노폐물을 제거하는 등의 효과 있는 것으로 알려지고 있다.

강릉대 식품과학과 유병진 교수는 지난 27일 고성군농업기술센터가 지역

특화사업 추진을 위해 마련한 연구과제 발표회에서 "다량의 폴리페놀 화합물을 함유하고 있는 꾸지뽕나무의 잎은 우수한 생리활성을 나타내고 있어 천연 항염증과 항산화제품, 미백 제품 등 기능성 가공식품의 신소재로 이용이 가능하다"고 설명했다.

식품연구원의 홍석산 박사도 이날 발표회에서 "꾸지뽕나무의 잎과 열매를 활용한 음료와 차, 피복쌀, 환, 식품첨가제, 술 등의 가공식품 개발이 빠른 시간 내에 이뤄져 이를 상품화 해야 한다"고 강조 했다.

momo@yna.co.kr

(고성=연합뉴스) 이종건 기자

2008.08.28 13:36:44 입력

* 2007년 8월 11일, KBS VJ클럽 방영

아낌없이 주는 나무 - 강원도 고성의 新특산물 ‘꾸지뽕’

전남 나주하면 배!, 경북 영덕하면 대개!, 경기도 이천하면 도자기! 우리나라 각 지역을 대표하는 다양한 특산물들이 있다.

그런데! 최근 강원도 고성에 새로운 특산물이 등장했다?!

발걸음 빠른 제작팀, 강원도 고성으로 향했다.

오늘의 주인공은 그 이름도 생소한 꾸지뽕나무!

뽕나무과에 속하지만 뽕나무와는 다른 희귀식물이란다~

먹는 방법도 간단해, 꾸지뽕나무 잎을 차로 마실 수도 있고,

가루를 내어 음식에 넣으면 천연조미료가 따로 없다는데!!

줄기 달인 차를 물 대신 늘 마시면 면역력이 강해지고

피부까지 매끈해진다고~

동의보감에 의하면, 부인의 붕중혈결을 다스리고

월경을 통하게 하며 어혈을 풀고 신장의 결석을 없애며

근골을 튼튼하게 하고 혈액을 맑게 한다는 꾸지뽕나무.
또한 꾸지뽕나무 지팡이를 짚으면 중풍에 걸리지 않는다는
얘기가 있을 정도로 버릴 것 없이 그 이름값을 톡톡히 한단다.
자생하는 꾸지뽕나무를 찾아보기 어려운 요즘!
최근, 산불피해로 황폐화된 강원도 고성 일대에서
꾸지뽕나무 재배가 한창이라는데~
그 현장으로 VJ카메라가 따라가 본다!!

* 꾸지뽕잎의 노화억제 관련 특허 (출원번호 10-2007-0134556 노화억제용
배합물)

* 특허출원 제10-2009-0010704호 꾸지뽕잎과 동과를 포함하는 아토피 피
부염 억제 조성물

* 꾸지뽕의 체중 및 혈당 조절 기작이 타연구에서 추가연구될 것임

제6장 참고문헌

- (1) <http://rndmoa.kfda.go.kr:9010/index.html>.
- (2) http://www.eseolim.co.kr/jongja/tcyoung/tc_06.htm.
- (3) 김정찬. 1998. 중약대사전. 도서출판 정담, 서울.
- (4) 동의보감국역위원회. 1988. 국역증보 동의보감. 남산당, 서울.
- (5) 이시진. 1987. 본초강목. 고문사, 서울.
- (6) An RB, Sohn DH, Kim YC. 2006. Hepatoprotective compounds of the roots of *Cudrania tricuspidata* on tacrine-induced cytotoxicity in Hep G2 cells. Biol Pharm Bull. Apr; 29(4): 838-40.
- (7) Lee BW, Lee JH, Lee ST, Lee HS, Lee WS, Jeong TS, Park KH. 2005. Antioxidant and cytotoxic activities of xanthenes from *Cudrania tricuspidata*. Bioorg Med Chem Lett. Dec 15; 15(24): 5548-52.
- (8) Park KH, Park YD, Han JM, Im KR, Lee BW, Jeong IY, Jeong TS, Lee WS. 2006. Anti-atherosclerotic and anti-inflammatory activities of catecholic xanthenes and flavonoids isolated from *Cudrania tricuspidata*. Bioorg Med Chem Lett. Nov 1; 16(21): 5580-3.

(9) Ochi, H.: The Control of Human Aging. Fukuroi, Japan Institute for the Control of Aging, 1995.

(10) Kahkonen MP, Heinonen M: Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *J Agric Food Chem* 2003; 29: 51628–51633.

(11) Hou DX, Fujii M, Terahara N, Yoshimoto M: Molecular mechanisms behind the chemopreventive effects of anthocyanidins. *J Biomed Biotechnol* 2004; 5: 321–325.

(12) Matsumoto H, Nakamura Y, Tachibanaki S, Kawamura S, Hirayama M: Stimulatory effect of cyanidin 3-glycosides on the regeneration of rhodopsin. *J Agric Food Chem* 2003; 41: 3560–3565.

(13) Tarozzi A, Marchesi A, Hrelia S, Angeloni C, Andrisano V, Fiori J, Cantelli-Forti G, Hrelia P: Protective effects of cyanidin-3-O-beta-glucopyranoside against UVA-induced oxidative stress in human keratinocytes. *Photochem Photobiol* 2005; 81: 623–629.

(14) Rossi A, Serraino I, Dugo P, Di Paola R, Mondello L, Genovese T, Morabito D, Dugo G, Sautebin L, Caputi AP, Cuzzocrea S: Protective effects of anthocyanins from blackberry in a rat model of acute lung inflammation. *Free Radic Res* 2003; 37: 891–900.

(15) Tsuda T, Horio F, Osawa T: Cyanidin 3-O-beta-D-glucoside suppresses nitric oxide production during a zymosan treatment in rats. J Nutr Sci Vitaminol 2002; 48: 305-310.

(16) Mazza G, Miniati E: Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains, CRC Press, Boca Raton, FL, 1993, pp. 1-40.

(17) Zhang F, Ye C, Li G, et al. The rat model of type 2 diabetic mellitus and its glycometabolism characters. Exp Anim 2003; 52: 401-7.

(18)

http://hfoodi.kfda.go.kr/data/pds_view.jsp?sfield=&skey=null&pageStr=2&intIdx=70&cateIdx=69&categoryCode=18

(19) Ho SC, Liu JH, Wu RY. Establishment of the mimetic aging effect in mice caused by D-galactose. Biogerontology. 2003; 4(1): 15-8.

(20) 국가중의약관리국. 1999. 중화본초. 상해과학기술출판사, 상해.

(21) Tilvis RS, Miettinen TA. Serum plant sterols and their relation to cholesterol absorption. Am J Clin Nutr. 1986; 43: 92-97.

(22) Gupta MB, Nath R, Srivastava N, Shanker K, Kishor K, Bhargava KP. Anti-inflammatory and antipyretic activities of β -sitosterol. Planta

Med. 1980; 39(2): 157–163.

(23) Bhattacharyya AK, Connor WE, Lin DS. The origin of plant sterols in the skin surface lipids in humans: from diet to plasma to skin. *J Invest Dermatol.* 1983; 80(4): 294–296.

(24) Klippel KF, Hiltl DM, Schipp B. A multicentric, placebo-controlled, double-blind clinical trial of beta-sitosterol (phytosterol) for the treatment of benign prostatic hyperplasia. German BPH-Phyto Study Group. *Br J Urol.* 1997; 80(3): 427–432.

(25) Awad AB, Downie A, Fink CS, Kim U. Dietary phytosterol inhibits the growth and metastasis of MDAMB-231 human breast cancer cells grown in SCID mice. *Anticancer Res.* 2000; 20(2A): 821–824.

(26) Mur E, Hartig F, Eibl G, Schirmer M. Randomized double blind trial of an extract from the pentacyclic alkaloid-chemotype of *Uncaria tomentosa* for the treatment of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2002; 29(4): 678–681.

(27) Williams JE. Review of antiviral and immunomodulating properties of plants of the Peruvian rainforest with a particular emphasis on *Una de Gato* and *Sangre de Grado*. *Altern Med Rev.* 2001; 6(6): 567–579.

- (28) 농촌진흥청 농촌생활연구소. 2001. 식품성분표, 6th ed. 상록사.
- (29) Kim, K-S, Ezaki, O., Ikemodo, S., and Itakura, H. 1995. Effects of *Platycodon grandiflorum* feeding on serum and liver lipid concentrations in rats with diet-induced hyperlipidemia. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 41: 485-491.
- (30) Desco MC, Asensi M, Márquez R, Martínez-Valls J, Vento M, Pallardó FV, Sastre J, Viña J. Xanthine oxidase is involved in free radical production in type 1 diabetes: protection by allopurinol. Diabetes. 2002 Apr; 51(4):1118-24.
- (31) Takara K, Iwasaki H, Ujihara K, Wada K. Human tyrosinase inhibitor in rum distillate wastewater. J Oleo Sci. 2008; 57(3):191-6.
- (32) Prota G. Progress in the chemistry of melanins and related metabolites. Med. Res. Rev. 8, 525-555 (1998).
- (33) Harborne, J.B., 1980. Plant phenolics. In: Bell, E.A., Charlwood, B.V. (Eds.), Encyclopedia of Plant Physiology, vol. 6. Springer-Verlag, Berlin, pp. 329-402.
- (34) Larson, R.A., 1988. The antioxidants of higher plants. Phytochemistry 27, 969-978.

(35) Strack, D., 1997. Phenolic metabolism. In: Dey, P.M., Harborne, J.B. (Eds.), *Plant Biochemistry*. Academic Press, New York, pp. 387-437.

(36) Shelp BJ, Bown AW, McLean MD (1999) Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. *Trends Plant Sci.* 4: 446-452.

(37) Snedden WA, Fromm H (1999) Regulation of the γ -aminobutyrate-synthesizing enzyme, glutamate decarboxylase, by the calcium calmodulin: a mechanism for rapid activation in response to stress. In: H.R. Lerner, Editor, *Plant responses to environmental stresses: From Phytohormones to Genome Reorganization*, Marcel Dekker, pp. 549-574.

(38) Kinnersley AM, Turano, FJ (2000) Gamma aminobutyric acid (GABA) and plant responses to stress. *Crit. Rev. Plant Sci.* 19: 479-509.

(39) Krogsgarrd-Larzen P (1989) GABA receptors. In: Williams M, Glennon RA, Timmermans PMWM (Eds.), *Receptor Pharmacology and Function*. Marcel Dekker Inc, New York, pp. 349-383.

(40) Mody I, Dekonink Y, Otis TS, Soltesz I (1994) Bringing the cleft at GABA synapses in the brain. *Trends Neurosci.* 17: 517-525.

(41) Oh SH, Oh CH (2003) Brown rice extracts with enhanced levels of GABA stimulate immune cells. *Food Sci. Biotechnol.* 12: 248-252.

(42) Oh SH, Oh CH (2004) Effect of germinated brown rice extract with enhanced levels of GABA on cancer cell proliferation and apoptosis. *J. Medi. Food* 7: 19-23.

(43) E.E. Deschner, J. Ruperto, G. Wong, H.L. Newmark, *Carcinogenesis* 12 (1991) 1193.

(44) R. Mata, A. Rojas, L. Acevedo, S. Estrada, F. Calzada, I. Rojas, R. Bye, E. Linares, *Planta Med.* 63 (1) (1997) 31.

(45) R.P. Webster, M.D. Gawde, R.K. Bhattacharya, *Cancer Lett.* 109 (1996) 185.

(46) D'Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C, Masella R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanita.* 2007; 43(4): 348-61.

(47) Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C, Jimenez L. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2005;45:287-306.

(48) Marrugat J, Covas MI, Fito M, Schroder H, Miro-Casas E, Gimeno E, Lopez-Sabater MC, de la Torre R, Farre M. Effects of differing phenolic content in dietary olive oils on lipids and LDL oxidation - a randomized controlled trial. *Eur J Nutr* 2004;43:140-7.

(49) Masella R, Giovannini C, Vari R, Di Benedetto R, Coni E, Volpe R, Fraone N, Bucci A. Effects of dietary virgin olive oil phenols on low density lipoprotein oxidation in hyperlipidemic patients. *Lipids* 2001;36:1195-202.

(50) Gimeno E, Fito M, Lamuela-Raventos RM, Castellote AI, Covas M, Farre M, de La Torre-Boronat MC, Lopez-Sabater MC. Effect of ingestion of virgin olive oil on human low-density lipoprotein composition. *Eur J Clin Nutr* 2002;56:114-20.

(51) covas MI, Nyyssonen K, Poulsen HE, Kaikkonen J, Zunft HJ, Kiesewetter H, Gaddi A, de la Torre R, Mursu J, Baumler H, Nascetti S, Salonen JT, Fito M, Virtanen J, Marrugat J, Group ES. The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2006;145:333-41.

(52) Ebling L, Weiss RM, Teufelhofer O, Uhl M, Knasmueller S, Schulte-Hermann R, Berger W, Micksche M. Green tea extract and (-)-epigallocatechin-3-gallate, the major tea catechin, exert oxidant but lack antioxidant activities. *Faseb J* 2005;19:807-9.

(53) Lambert JD, Hong J, Yang GY, Liao J, Yang CS. Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. *Am J Clin Nutr* 2005;81:284S-291S.

(54) Naasani I, Oh-Hashi F, Oh-Hara T, Feng WY, Johnston J, Chan K, Tsuruo T. Blocking telomerase by dietary polyphenols is a major mechanism for limiting the growth of human cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Res* 2003;63:824-30.

(55) Hussain T, Gupta S, Adhami VM, Mukhtar H. Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate selectively inhibits COX-2 without affecting COX-1 expression in human prostate carcinoma cells. *Int J Cancer* 2005;113:660-9.

(56) O'Leary KA, de Pascual-Tereasa S, Needs PW, Bao YP, O'Brien NM, Williamson G. Effect of flavonoids and vitamin E on cyclooxygenase-2 (COX-2) transcription. *Mutat Res* 2004;551:245-54.

(57) Sadik CD, Sies H, Schewe T. Inhibition of 15-lipoxygenases by flavonoids: structure-activity relations and mode of action. *Biochem*

Pharmacol 2003;65:773-81.

(58) Schewe T, Sadik C, Klotz LO, Yoshimoto T, Kuhn H, Sies H. Polyphenols of cocoa: inhibition of mammalian 15-lipoxygenase. *Biol Chem* 2001;382:1687-96.

(59) Kong AN, Yu R, Chen C, Mandlekar S, Primiano T. Signal transduction events elicited by natural products: role of MAPK and caspase pathways in homeostatic response and induction of apoptosis. *Arch Pharm Res* 2000;23:1-16.

(60) Spencer JP, Rice-Evans C, Williams RJ. Modulation of prosurvival Akt/protein kinase B and ER K1/2 signaling cascades by quercetin and its in vivo metabolites underlie their action on neuronal viability. *J Biol Chem* 2003;278:34783-93.

(61) Wiseman S, Mulder T, Rietveld A. Tea flavonoids: bioavailability in vivo and effects on cell signaling pathways in vitro. *Antioxid Redox Signal* 2001;3:1009-21.

(62) Monasterio A, Urdaci MC, Pinchuk IV, Lopez-Moratalla N, Martinez-Irujo JJ. Flavonoids induce apoptosis in human leukemia U937 cells through caspase- and caspase-calpain-independent pathways. *Nutr Cancer* 2004;50:90-100.

- (63) Way TD, Kao MC, Lin JK. Degradation of HER2/neu by apigenin induces apoptosis through cytochrome c release and caspase-3 activation in HER2/neu-overexpressing breast cancer cells. *FEBS Lett* 2005;579:145-52.
- (64) Fischer PM, Lane DP. Inhibitors of cyclin-dependent kinases as anti-cancer therapeutics. *Curr Med Chem* 2000; 7:1213-45.
- (65) Murphy KJ, Chronopoulos AK, Singh I, Francis MA, Moriarty H, Pike MJ, Turner AH, Mann NJ, Sinclair AJ. Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (*Theobroma cacao*) inhibit platelet function. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1466-73.
- (66) Birt DF, Hendrich S, Wang W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacol Ther* 2001;90:157-77.
- (67) Kris-Etherton PM, Keen CL. Evidence that the antioxidant flavonoids in tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health. *Curr Opin Lipidol* 2002;13:41-9.
- (68) Swain T, Hillis WE, Oritega M (1959) Phenolic constituents of *Psidium domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J Sci Food Agric* 10: 83-88.

(69) Kim MJ, Oh SL. 1999. Effect of pre-treatment methods on the quality improvement of persimmon leaf tea. Korean J Postharvest Sci Technol 6: 435-441.

(70) Oh HI, Hoff JE, Armstrong GS, Haff LA. 1980. Hydrophobic interaction in tannin-protein complexes. J Agric Food Chem 28: 394-398.

(71) Kim JH, Choi MS, Moon KD. 2000. Quality characteristic of drink and tea-bag processed with safflower seed powder. Korean J Postharvest Sci Technol 7: 171-176.

(72) 이철호, 채수규, 이진근, 고경희, 손혜숙. 2003. 식품평가 및 품질관리론. 유림문화사, 서울. p 239-292.

(73) Lee JW, Kee HJ, Park YK, Rhim JW, Jung ST, Ham KS, Kim IC, Kang SG. 2000. Preparation of noodle with laver powder and its characteristics. Korean J Food Sci Technol 32(2): 298-305.

(74) Kim YS. 1998. Effects of *Poria cocos* powder on wet noodle qualities. Agri Chem Biotechnol 41(7): 539-544.

(75) Lee YS, Lim NY, Lee KH. 2000. A study on the preparation and evaluation of dried noodle products made from composite flours utilizing arrowroot starch. Korean J Soc Food Sci 16(6): 681-688.

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.